

# СВЕРХКРИТИЧЕСКИЕ ФЛЮИДЫ

ТЕОРИЯ, ЭТАПЫ СТАНОВЛЕНИЯ,  
СОВРЕМЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ



# СВЕРХКРИТИЧЕСКИЕ ФЛЮИДЫ: ТЕОРИЯ, ЭТАПЫ СТАНОВЛЕНИЯ, СОВРЕМЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

**РЕКОМЕНДОВАНО**

*Дальневосточным региональным учебно-методическим центром  
(ДВ РУМЦ) в качестве учебного пособия для магистрантов  
направлений подготовки «Биотехнология», «Высокотехнологичные  
производства пищевых продуктов функционального и специализированного  
назначения», аспирантов направлений подготовки  
«Промышленная экология и биотехнологии»,  
«Химические науки», «Химическая технология»*



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ  
МОСКВА  
КРАСНОДАР  
2019

УДК 54  
ББК 24я73

**Р 17      Разгонова М. П.** Сверхкритические флюиды: теория, этапы становления, современное применение : учебное пособие / М. П. Разгонова, А. М. Захаренко, А. А. Сергиевич [и др.]. — Санкт-Петербург : Лань, 2019. — 192 с. : ил. — (Учебники для вузов. Специальная литература). — Текст : непосредственный.

**ISBN 978-5-8114-3915-7**

Описаны классические и современные методы исследования с помощью SCF, которые делают возможной обработку и экстрагирование тепло-, свето- или сдвигочувствительных соединений с дополнительным преимуществом стерильной среды, подходящей для производства GMP.

Учебное пособие предназначено для студентов направления подготовки «Агропищевая биотехнология» (магистратура), «Технология пищевых продуктов функционального назначения» (магистратура), аспирантов подготовки по УГСН «Промышленная экология и биотехнология», «Химия», «Химические технологии» и другим направлениям, где предусмотрен курс по сверхкритическим флюидам. Книга также будет полезна ученым, специализирующимся в области химии, химической технологии и фармакологии и специалистам, работающим в производстве биологически активных веществ.

УДК 54  
ББК 24я73

#### **Рецензенты:**

*Е. А. БОРОДИН* — доктор медицинских наук, зав. кафедрой химии Амурской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения Российской Федерации;  
*М. К. ГРАЧЕВ* — доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой органической химии Института биологии и химии Московского педагогического государственного университета.

**Обложка**  
*Е. А. ВЛАСОВА*

© Издательство «Лань», 2019  
© Коллектив авторов, 2019  
© Издательство «Лань»,  
художественное оформление, 2019

# СОДЕРЖАНИЕ

<b>Введение</b> .....	6
<b>1. Химия и проектирование материалов для CO<sub>2</sub>-процессов</b> .....	8
1.1. Рассмотрение растворимости в CO <sub>2</sub> .....	9
1.1.1. Ранние работы и открытие фторсодержащих CO <sub>2</sub> -фильных соединений .....	9
1.1.2. Важнейшие характеристики растворимости в CO <sub>2</sub> .....	15
1.2. Солюбилизация нерастворимых соединений в CO <sub>2</sub> : возможность применения в фармацевтической индустрии .....	17
1.2.1. Сурфактанты .....	17
1.2.2. Соразтворители (косольвенты) .....	20
1.2.3. Ковалентная модификация .....	21
<b>2. Фазовое равновесие системы «жидкость — твердое тело» в сверхкритических флюидных системах</b> .....	23
<b>3. Растворимость твердого тела и перенасыщение</b> .....	27
3.1. Формирование центров кристаллизации и спинодальная кривая .....	28
<b>4. Фазовое поведение</b> .....	31
4.1. Однокомпонентная фазовая граница .....	31
4.2. Двухкомпонентная фазовая граница .....	32
4.3. Пути кристаллизации .....	34
<b>5. Динамика жидкости, массоперенос и образование частиц в сверхкритических флюидах</b> .....	38
5.1. Анализ смешивания и осадкообразования в сверхкритических процессах in situ .....	39
5.2. Свойства сверхкритических флюидов (SCF) .....	43
5.2.1. Неоднородность молекулярной шкалы .....	43
5.2.2. Фазовый переход .....	46
5.2.3. Параметры массо- и теплопередачи .....	48
5.2.4. Различия между подкритическими и сверхкритическими жидкостями .....	49
5.3. Струйное смешивание .....	50
5.3.1. Изотермическое смешивание .....	50
5.3.2. Смешивание и теплоперенос .....	54
5.3.3. Влияние встречной диффузии во время смешивания .....	58
5.4. Дисперсия каплеобразования и массопередача .....	59

5.4.1. Дисперсия с помощью одной жидкостной форсунки.....	59
5.4.2. Распад и диспергирование с помощью двухжидкостной форсунки.....	63
5.4.3. Тепло и массоперенос между сверхкритической флюидной фазой и каплями .....	68
5.5. Формирование частиц.....	75
5.5.1. Осаждение в струйном перемешивании.....	75
5.5.2. Сравнение экспериментальных и теоретических данных для образования струйного осадка (преципитации) .....	78
5.5.3. Капельное осаждение.....	81
5.5.4. Агрегация частиц.....	85
5.6. Влияние физических и химических характеристик материала и константы времени осаждения .....	88
5.7. Основные принципы измерения для процессов осаждения.....	93
5.8. Выводы.....	99
<b>6. Сверхкритическая CO<sub>2</sub>-экстракция из натуральных матриц растений.....</b>	<b>100</b>
6.1. Главные преимущества техники SFE.....	101
6.2. Флюидные материалы и модификаторы.....	102
6.3. Подготовка образцов.....	106
6.4. Экстракционные условия.....	108
6.5. Методы сбора результатов экстракции.....	111
6.6. Очистка от пестицидов матриц растений и других образцов.....	112
6.7. Фракционирование в режиме онлайн и одновременная стыковка с хроматографическими методами.....	113
6.8. Моделирование процессов сверхкритической экстракции.....	114
<b>7. Использование субкритической воды (SCW) для экстрагирования.....</b>	<b>117</b>
<b>8. Инактивация микроорганизмов в пищевых продуктах углекислым газом под сверхкритическим давлением.....</b>	<b>119</b>
8.1. Сравнение существующих методов инактивации пищевых продуктов .....	119
8.2. Механизм бактерицидного воздействия углекислого газа.....	121
8.2.1. Основы.....	121
8.2.2. Детализированный механизм.....	121
8.2.2.1. Шаг 1. Солюбилизация сжатого CO <sub>2</sub> в жидкой фазе .....	121
8.2.2.2. Шаг 2. Модификация клеточной мембраны.....	123
8.2.2.3. Шаг 3. Снижение внутриклеточного pH.....	124
8.2.2.4. Шаг 4. Ключевая инактивация ферментов/клеточный метаболизм ингибирования из-за понижения pH <sub>i</sub> .....	125
8.2.2.5. Шаг 5. Ингибирующий эффект молекулярного CO <sub>2</sub> и HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> в метаболизме.....	126
8.2.2.6. Шаг 6. Нарушение упорядоченности внутриклеточного электролитного баланса.....	127
8.2.2.7. Шаг 7. Удаление жизненно важных компонентов из клеток и клеточных мембран.....	128
8.3. Инактивация вегетативных клеток.....	129

8.3.1. Влияние давления и температуры .....	129
8.3.2. Влияние агрегатного состояния CO <sub>2</sub> на процесс.....	130
8.3.3. Влияние перемешивания .....	134
8.3.4. Влияние содержания воды.....	134
8.3.5. Влияние скорости разгерметизации .....	138
8.3.6. Восприимчивость различных микроорганизмов.....	140
8.3.7. Влияние начальной концентрации бактерий на эффективность обработки сверхкритическим CO <sub>2</sub> .....	140
8.3.8. Влияние физических и химических свойств суспендирующей среды.....	140
8.3.9. Влияние начального pH суспендирующей среды .....	148
8.3.10. Влияние условий культивирования и стадии роста клеток.....	151
8.3.11. Метаболически поврежденные микроорганизмы .....	151
8.3.12. Эффект комбинированного воздействия .....	152
8.3.13. Возникновение устойчивых к воздействию сверхкритического CO <sub>2</sub> мутантов .....	152
8.4. Инаktivация бактериальных и грибковых спор .....	152
8.4.1. Только SC CO <sub>2</sub> («чистый» SC CO <sub>2</sub> ) .....	152
8.4.2. Комбинированные процедуры .....	155
8.5. Характеристика микробиологических кривых выживаемости во время обработки сверхкритическим CO <sub>2</sub> .....	161
8.6. Влияние воздействия сверхкритическим CO <sub>2</sub> на качество и микробиологическую устойчивость продуктов питания.....	163
8.6.1. Жидкие продукты питания.....	163
8.6.1.1. Влияние на физические, химические и сенсорные характеристики .....	164
8.6.1.2. Влияние на питательность пищевых продуктов .....	165
8.6.1.3. Влияние на микробиологическую устойчивость .....	165
8.6.2. Твердые пищевые продукты .....	166
8.7. Доведение разработки до промышленного внедрения.....	167
8.8. Выводы и будущие перспективы в разработке новой технологии.....	168
8.9. Регулирование ферментативной активности в продовольственной матрице.....	169
<b>9. Эффективность сверхкритической технологии в более широком контексте.....</b>	<b>171</b>
<b>10. Описание работы сверхкритического экстрактора Thar SFC, S. N. 3526551 (США).....</b>	<b>173</b>
<b>11. Справочные данные .....</b>	<b>176</b>
<b>Список используемой литературы.....</b>	<b>182</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Развитие прогрессивных технологий, сберегающих энергетические, материальные и трудовые ресурсы, использующих замкнутые циклы и реализующих комплексную переработку ценного растительного сырья, является актуальной задачей. В этой связи особое значение приобретают исследования по созданию новых направлений промышленного экстракционного производства из натуральных продуктов и растительных матриц с привлечением современных научных технологий.

Большой интерес представляют процессы обработки лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами. В настоящее время в производстве лекарственных средств и БАД для эффективной экстракции природных веществ (особенно липофильного характера) из лекарственного растительного сырья широко используются органические растворители, большинство из которых огне- и взрывоопасны, токсичны и не всегда селективны. В процессах экстрагирования часто применяют высокие температуры, которые отрицательно влияют на термолабильные соединения в растительных матрицах. Экстракция обычными методами зачастую продолжительна во времени и требует удаления растворителей из конечного продукта. Использование в качестве растворителей сверхкритических флюидов дает возможность сократить продолжительность экстрагирования, получать безводные нативные экстракты, исключить воздействие высоких температур на стадии концентрирования и повысить тем самым качество целевых продуктов экстракции.

Еще в конце XIX в. стало известно, что многие газы, при температурах выше их критических температур и повышенных давлениях, растворяют в себе различные вещества.

Однако до сих пор газовые растворители изучены значительно слабее, чем жидкие.

Сжиженные газы как растворители обладают рядом интересных свойств, которые обуславливают все возрастающий к ним интерес. Известно их преимущественное применение в пищевой, парфюмерно-косметической промышленности при получении высококачественных экстрактов из эфирномасличного сырья и при производстве лекарственных средств.

Процесс экстракции сжиженными газами проводится под большим давлением, и при снятии давления экстрагирующий газ легко и быстро улетучивается из извлеченного и отработанного сырья. В результате остается сумма экстрагированных веществ, не нуждающаяся в какой-либо дополнительной обра-

ботке. Каждый из сжиженных газов обладает индивидуальными физико-термодинамическими свойствами. Можно подобрать состав сжиженного газа, обладающего как гидрофильными, так и олеофильными свойствами. При сверхкритической экстракции возможно применение соразтворителей в малых дозах, что значительно усиливает экстракционный выход. Это создает возможность вести экстракцию из сырья отдельных химических соединений, обладающих различной полярностью. Такое свойство сжиженных газов позволяет вводить в технологический процесс фазу селективной экстракции растворителем, способным формировать заданное количество экстракта, извлекать по мере надобности отдельные вещества, комплексы или классы соединений, не затрагивая сопутствующие. Выход продукта при извлечении сжиженными газами может достигать 88–98% от потенциально возможного, что, как правило, гораздо выше, чем в классических способах экстракции.



# 1. ХИМИЯ И ПРОЕКТИРОВАНИЕ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ CO<sub>2</sub>-ПРОЦЕССОВ

Углекислый газ обладает многими свойствами, которые делают его привлекательным растворителем, включая низкую токсичность, невоспламеняемость и экологическую чистоту. Он был предложен как «зеленая» альтернатива традиционным органическим растворителям, поскольку он не является летучим органическим соединением (ЛОС) и не ограничивается в применении в пищевых или фармацевтических целях. Как жидкий, так и сверхкритический CO<sub>2</sub> используются в качестве растворителей; однако, как это было ранее предположено, сверхкритические жидкости имеют дополнительное преимущество, так называемую «приспособляемость растворителя» (McHugh et al.) [1]. Небольшие изменения давления в сверхкритической области приводят к значительным изменениям плотности жидкости, которые, в свою очередь, приводят к изменениям в свойствах растворителя. В сверхкритических условиях CO<sub>2</sub>, как и все сверхкритические жидкости, предлагает преимущества массопереноса по сравнению с обычными органическими растворителями благодаря его газопоглощающей диффузии, низкой вязкости и исчезающему межфазному натяжению.

Значительные исследования проводятся для изучения возможности повышения полезности CO<sub>2</sub> как растворителя. В фармацевтической области применение сверхкритических жидкостей признается эффективным в качестве растворителей при производстве **твердых частиц, экстракции и сепарации активных ингредиентов и для получения микроэмульсий и устойчивых систем доставки лекарственных средств**. Основным недостатком, касающимся поведения растворителя, является то, что CO<sub>2</sub> является слабым растворителем для многих полярных и неполярных соединений, хотя он легко смешивается с небольшими неполярными (и, следовательно, летучими) молекулами при умеренных давлениях. В то время как органические соединения обычно классифицируются как гидрофильные или липофильные, часто бывает, что ни гидрофильные, ни липофильные молекулы не проявляют заметной растворимости в двуокиси углерода при давлениях менее 500 бар. Таким образом, термин «CO<sub>2</sub>-фильный» был придуман для описания молекул, которые проявляют высокую растворимость в CO<sub>2</sub> (когда фазовое равновесие твердое тело — жидкость регулирует ситуацию) при умеренных давлениях или, где касается фазового поведения жидкость — жидкость, достигают полной смешиваемости при умеренном давлении (DeSimone et al.) [2]. Однако маловероятно, что большинство со-

единений, используемых в фармацевтических и/или биоматериалах, продемонстрируют заметную или полную растворимость в  $\text{CO}_2$  при экономически приемлемом давлении.

Хотя именно те уникальные свойства, что регулируют растворимость в  $\text{CO}_2$ , все еще не до конца изучены, в этой главе ниже рассматриваются свойства  $\text{CO}_2$  и важные характеристики, которые диктуют, какие вещества возможно смешивать и какие вещества не могут легко смешиваться с углекислым газом.

Представлены способы солюбилизации  $\text{CO}_2$ -фобных или практически нерастворимых соединений, таких как фармацевтические препараты и биоматериалы в  $\text{CO}_2$ . Наконец, рассматривая подробные исследования растворимости в  $\text{CO}_2$ , мы прогнозируем, какие характеристики необходимы для разработки материалов для растворимости в  $\text{CO}_2$ .

## **ВОПРОСЫ**

1. Назовите основные достоинства углекислого газа как растворителя.
2. Назовите недостатки углекислого газа как растворителя в фармацевтическом применении.

## **1.1. РАССМОТРЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ В $\text{CO}_2$**

### **1.1.1. РАННИЕ РАБОТЫ И ОТКРЫТИЕ ФТОРСОДЕРЖАЩИХ $\text{CO}_2$ -ФИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

При изучении фазового поведения соединений в двуокиси углерода важно отметить, что поведение фазы твердое тело — жидкость (растворимость) и поведение фазы жидкость — жидкость (смешиваемость) приведены в многочисленных научных источниках. В целом, обозначение одного материала как более или менее « $\text{CO}_2$ -фильного» относительно других относится к тому, являются ли растворимость или давление смешиваемости (для данной концентрации) относительно ниже или выше, чем у сравниваемого материала.

$\text{CO}_2$  в некотором смысле является неуловимым растворителем. Точное определение молекулярных характеристик, которые регулируют растворимость/смешиваемость как в жидком, так и в сверхкритическом  $\text{CO}_2$ , продолжает генерировать противоречивые мнения в научной литературе. В самом деле, оригинальная гипотеза относительно поведения  $\text{CO}_2$ , начиная с ранних работ до сегодняшнего времени, отсутствует. Хотя свойства растворителя  $\text{CO}_2$  не являются до конца изученными, фиксируется идентификация новых  $\text{CO}_2$ -фильных соединений.

Активное изучение поведения различных органических или неорганических соединений в жидком  $\text{CO}_2$  можно отсчитывать с 1954 г. — с появления фундаментальной публикации В. Фрэнсиса «Тройные системы в сжиженном углекислом газе» (A. W. Francis) [3]. Хотя фазовое поведение различных орга-

нических или неорганических соединений в жидком  $\text{CO}_2$  публиковалось и до этой работы, Фрэнсис сообщил о фазовом поведении 261 соединения (бинарных смесей) и 464 тройных систем, которые включали жидкий  $\text{CO}_2$  в качестве одного из компонентов. В то время не было никаких других публикаций о поведении тройных систем в жидком  $\text{CO}_2$ . Фрэнсис обнаружил, что при умеренной концентрации (до 40% по массе),  $\text{CO}_2$  действует как растворяющий газ и соразтворитель и, следовательно, способствует перемешиванию в тройных системах. В более высоких концентрациях (60–90%)  $\text{CO}_2$  является относительно слабым растворителем для многих таких же соединений. Мнение о том, что  $\text{CO}_2$  является довольно слабым растворителем для большинства соединений, справедливо и сегодня.

Первоначально параметр растворимости Гильдебранда  $\delta$ , определяемый как квадратный корень плотности когезионной энергии (КЭД), деленный на молярный объем, это указание того, какие вещества должны быть растворимы/смешиваемы в  $\text{CO}_2$ , т. е. соединения, которые имеют сравнимый параметр растворимости  $\delta$  с  $\text{CO}_2$ , будут растворимы. В 1969 г. Гиддингс сравнил силу элюирования ряда плотных газов с рядом жидкостей на основе  $\delta$  (Giddings et al.) [4]. Гиддингс предположил, что параметр растворимости является хорошим показателем элюирования и может служить в качестве руководства при выборе жидкости для использования в хроматографии. Согласно приближению Гиддингса, значение  $\delta$  было пропорционально квадратному корню критического давления ( $P_c^{1/2}$ ):

$$\delta = \frac{1,25 P_c^{1/2} \rho_{rg}}{\rho_{rl}},$$

где  $\rho_{rg}$  и  $\rho_{rl}$  — пониженная плотность сверхкритического газа и пониженная плотность жидкости при нормальной температуре кипения соответственно. Исходя из значений  $\delta_s$ , рассчитанных по Гиддингсу, мощность растворителя  $\text{CO}_2$  должна быть сопоставима с пиридином; очевидно, использование простой модели для  $\delta$  не может быть применено непосредственно к двуокиси углерода. Аллада позже аппроксимировал параметр растворимости  $\delta$  следующим образом (S. R. Allada) [5]:

$$\delta = \left( \frac{\Delta H_{vap} - RT}{V} \right)^{1/2},$$

где  $\Delta H_{vap}$  — теплота испарения при температуре  $T$ ;  $V$  — молярный объем. В этом приближении числитель можно заменить на изменение внутренней энергии ( $\Delta U$ ) при переходе от надкритической жидкости к нулевой плотности (идеальное газовое состояние). Исходя из этого приближения, при температуре около 25°C и давлениях между 100 и 300 бар, вычисленный параметр растворимости  $\delta_{\text{CO}_2}$  должен быть похожим на параметр растворимости алканов. Имеющиеся экспериментальные данные о соединениях в  $\text{CO}_2$  не поддерживали эту гипотезу.

В 1984 г. Хайятт провел всестороннее исследование растворимости многих органических соединений в жидком и сверхкритическом  $\text{CO}_2$  (J. A. Hyatt) [6], обобщая поведение растворителя  $\text{CO}_2$  на основе его собственной работы и работ Фрэнсиса (A. W. Francis) [3], Гоу (T. Gouw) [7] и Алвани (Z. Alwani) [8]:

1) жидкий  $\text{CO}_2$  ведет себя как углеводородный растворитель, за исключением метанольной смешиваемости;

2) жидкий  $\text{CO}_2$  не взаимодействует с органическими слабыми основаниями (например, анилином, пирролами, пиридинами), но образует соли с алифатическими первичным и вторичными аминами;

3) многие пары несмешивающихся или частично смешивающихся жидкостей образуют единые фазы в жидком  $\text{CO}_2$ ;

4) алифатические углеводороды с длиной цепи меньше  $\text{C}_{20}$  и небольшие ароматические углеводороды растворяются в жидком  $\text{CO}_2$ ;

5) галогенуглеводороды, альдегиды, сложные эфиры, кетоны и низкомолекулярные спирты растворимы в  $\text{CO}_2$ ;

6) поли(гидрокси-ароматические углеводородные соединения) нерастворимы;

7) полярные соединения, такие как амиды, амиды угольной кислоты, уретаны и азокрасители, показывают низкую растворимость в  $\text{CO}_2$ ;

8) несколько соединений с молекулярным весом выше 500, независимо от структуры, растворимы в жидком  $\text{CO}_2$ .

Основываясь на исследованиях и ИК-спектроскопии органических растворенных веществ в  $\text{CO}_2$ , Хайятт [6] пришел к выводу, что  $\text{CO}_2$  ведет себя как углеводородный растворитель с очень низкой поляризуемостью. Исследование Хайятта было актуальным в том, что он продемонстрировал, что  $\text{CO}_2$  может растворять или смешиваться с наиболее низкомолекулярными органическими соединениями; однако некоторые из его гипотез, похоже, сегодня не верны. В частности, понятие о том, что  $\text{CO}_2$  обладает свойствами растворителя, аналогичными углеводам (как указывал Аллада [5]), вводит в заблуждение, но задержалось на десятилетия.  $\text{CO}_2$  не мог растворить многие из соединений, которые растворялись бы в низкоуглеродных алканах, и наоборот. Кроме того, утверждение 2 было доказано, когда были проведены исследования, доказавшие, что  $\text{CO}_2$  взаимодействует с основаниями (J. C. Meredith) [9].

А. Яззи также первоначально указывал, что  $\text{CO}_2$  имеет свойства растворителя, аналогичные свойствам алканов (Iezzi et al.) [10]. Пентан, изеооктан и перфторгексан были использованы в качестве фильтрующих жидкостей низкого давления для  $\text{CO}_2$  под высоким давлением, что основано на подобию дипольных моментов, параметрах растворимости и поляризуемости/диполярности параметров углеводородов и двуокиси углерода.

В исследовании А. Яззи было обнаружено, что фторирование алифатического одноатомного радикала увеличивает его растворимость в  $\text{CO}_2$ . Это одно из ранних исследований, показавшее хорошее взаимодействие (и, следовательно, готовность к смешиванию) между фторированными соединениями и  $\text{CO}_2$ .

В течение этого периода Консани и Смит провели обширное, качественное исследование растворимости в  $\text{CO}_2$  многих доступных поверхностно-

активных веществ (Consani et al.) [11]. Неудивительно, что большинство ионных поверхностно-активных веществ были относительно нерастворимы в  $\text{CO}_2$ , в то время как их фторированные аналоги были растворены в  $\text{CO}_2$ , в соответствии с работой А. Яззи относительно влияния фторирования. Яззи [10] и Консани [11] исследовали, как включение функциональных групп фторзамещенного простого эфира в полимеры и поверхностно-активные вещества повышают растворимость в  $\text{CO}_2$ . Полимер поли(гексафторпропилен оксида) показывал высокую смешиваемость в  $\text{CO}_2$  (молекулярный вес 13,000, растворимый до 10% массовой доли полимера в  $\text{CO}_2$  при температуре 295 К и давлении 17 МПа). Более того, те поверхностно-активные вещества, которые включают функциональные группы фторзамещенного простого эфира, демонстрируют полную смешиваемость в  $\text{CO}_2$  при давлениях меньше, чем 20 МПа.

Ньюманом были проведены дополнительные исследования на амфифильных веществах с фторзамещенным эфиром (Newman et al.) [12]. Было показано несколько конкурирующих структурных факторов для определения давления смешиваемости в  $\text{CO}_2$ . Обычно увеличение молекулярной массы соединения имеет тенденцию увеличивать давление в точке помутнения; Ньюман обнаружил, что увеличение молекулярной массы за счет добавления  $\text{CO}_2$ -фильных групп фторзамещенных эфиров (и разветвление « $\text{CO}_2$ -фильных хвостов») уменьшило давление в точке помутнения. Таким образом, давление смешивания таких соединений в  $\text{CO}_2$  зависит от баланса между энтальпией и энтропией смешивания.

Увеличение количества  $\text{CO}_2$ -фильных групп в соединении делает его более растворимым в  $\text{CO}_2$  вследствие повышенной энтальпии смешивания, но в конечном итоге увеличение размера молекулы приводит к меньшей растворимости, поскольку энтропия смешивания уменьшается. Силиконовые амфифильные вещества (поли(диметилсилоксаны)) были также исследованы на их растворимость в  $\text{CO}_2$ , так как подобные фторзамещенные эфиры диметилсилоксана имели низкий параметр растворимости (Hoeftling et al.) [13]. Как продемонстрировано Хофлингом [13], тенденции в балансе энтальпии и энтропии смешивания также справедливы для поверхностно-активных веществ на основе силикона; однако поверхностно-активные вещества на основе силикона намного менее « $\text{CO}_2$ -фильные», чем фторзамещенные эфиры.

Недавняя работа МакХью и др. [14] предполагает, что фторированные материалы взаимодействуют конкретно с  $\text{CO}_2$  только в том случае, если присутствие фтора приводит к созданию значительного дипольного момента (создавая таким образом диполь-квадрупольное взаимодействие с диоксидом углерода) (McHugh et al.) [14]. Как и с чем углекислый газ проявляет благоприятное специфическое взаимодействие, продолжает оставаться интереснейшей целью исследования.

По большей части, соединения, содержащие фтор и силиконовые функциональные группы, считались совместимыми с  $\text{CO}_2$  на основе низких параметров растворимости обоих. Хотя расчет параметра растворимости ( $\delta$ ) (с использованием уравнения состояния)  $\text{CO}_2$  показывает, что этот газ имеет мощность растворителя аналогично низкоуглеродистым ( $< \text{C}_6$ ) алканам, при-

близительно 20%  $\delta$  из-за большого квадрупольного момента  $\text{CO}_2$ , что приводит к завышенному значению.

Признавая, что  $\delta \text{CO}_2$  был завышен, Джонстон и его коллеги предложили, что поляризуемость на объем ( $\alpha/v$ ) была лучшей мерой растворяющей способности  $\text{CO}_2$  (Harrison et al.) [15]. Расчеты  $\alpha/v$  показывают, что  $\text{CO}_2$  является слабым растворителем. Фторирование соединения является полезным действием в определенных ситуациях, но этот процесс не гарантирует растворимости в  $\text{CO}_2$  при комнатной температуре и умеренном давлении. МакХью и др. показали, что полностью фторированный трифторэтилен-гексафтор пропиленового сополимера (FER19) (рис. 1а) требует температуры свыше  $190^\circ\text{C}$  и давления более 1000 бар для растворимости в  $\text{CO}_2$ . Напротив, частично фторированный винилиденфторид-гексафторпропилен сополимер (фторел) (рис. 1б) растворяли в  $\text{CO}_2$  при более умеренных (но все же экстремальных) условиях: температуре  $100^\circ\text{C}$  и давлении ниже 1000 бар. Разница между этими двумя полимерами заключается в их полярности; фторел полярный, что позволяет ему благоприятно взаимодействовать с углекислым газом благодаря квадрупольному моменту. Поскольку  $\text{CO}_2$  имеет такую низкую поляризуемость, его квадрупольный момент играет важную роль в растворимости. Таким образом, то, что  $\text{CO}_2$  является хорошим растворителем для фторела, скорее всего, есть результат специфических взаимодействий между  $\text{CO}_2$  и радикалами фтористого винилидена (Mertdogan et al.) [16].

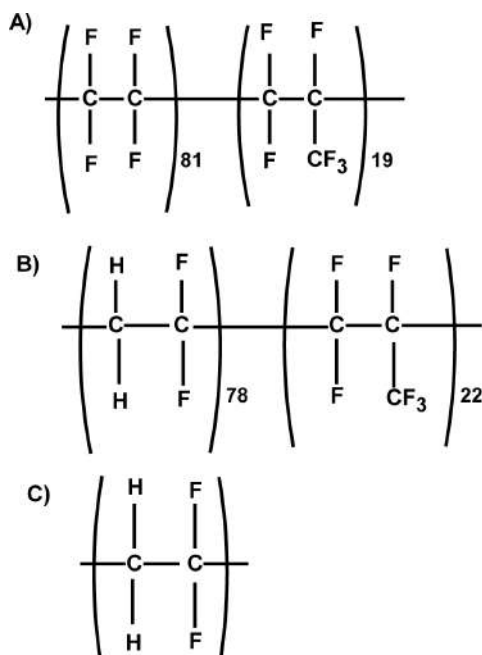


Рис. 1

Трифторэтилен-гексафтор пропиленового сополимера (FER19):  
 а — структура FER<sub>19</sub>; б — фторел; с — поли(винилиденфторид) PVDF [145].

Как и фторел, поли(винилиденфторид) (PVDF) (рис. 1с), как ожидается, проявит хорошее взаимодействие с  $\text{CO}_2$  вследствие дипольного момента, связанного с  $\text{CH}_2$  и  $\text{CF}_2$ -группами. Однако по сравнению с фторелом повышение температуры и давления необходимо для растворения PVDF в  $\text{CO}_2$ , хотя PVDF более полярный. Это указывает на то, что архитектура полимера также играет роль в растворимости в  $\text{CO}_2$ . Фтор имеет больший свободный объем (что доказывает его гораздо более низкая температура стеклования), что облегчает растворение в  $\text{CO}_2$  благодаря усиленной энтропии смешивания. Более жесткая основная цепь, как правило, более сложная (более высокие температуры, давление) для растворения в  $\text{CO}_2$ .

Таким образом, « $\text{CO}_2$ -фильность» представляет собой сумму всех положительных эффектов структурных параметров на термодинамику смеси, специфическое взаимодействие с  $\text{CO}_2$ , растворяющее взаимодействие между компонентами и энтропийное влияние.

Исто и его коллеги изучали способность фторированных поверхностно-активных веществ образовывать микроэмульсии в  $\text{CO}_2$  (Eastoe et al.) [17]. Замена концевых атомов F на H в поверхностно-активном веществе  $\text{C}_8\text{F}_{17}\text{COO}^-\text{Na}^+$  с образованием  $\text{HC}_8\text{F}_{16}\text{COO}^-\text{Na}^+$  приводила к постоянному дипольному моменту на гидрофобном конце цепи, делая поверхностно-активное вещество «биполярным». Замена F на H в концевой метильной группе снижала формирование мицелл, в соответствии с дипольным взаимодействием, и увеличивала **критическую концентрацию мицелл (смс)** в 4 раза. Скорее всего, «хвост» с H в концевой метильной группе более привлекателен для  $\text{CO}_2$  из-за дипольного момента, который увеличивает смс (критическую концентрацию мицелл) и уменьшает степень упаковки в мицеллы. Исто и его коллеги предложили использовать ограничивающие поверхностные тензоры воздух — вода при критической концентрации мицелл,  $\gamma_{\text{смс}}$ , как индикатор растворимости поверхностно-активного вещества в  $\text{CO}_2$  — **чем ниже значение, тем более растворимой должна быть молекула**. Исследования показали, что  $\gamma_{\text{смс}}$  уменьшался с увеличением длины цепи от  $(\text{CF}_2)_4$ - до  $(\text{CF}_2)_6$ - и  $\gamma_{\text{смс}}$  увеличивался с заменой атома F на H в концевой метильной группе ряда фторированных аналогов с часто используемым поверхностно-активным веществом натрий бис(2-этил-1-гексил) сульфосукцинат (АОТ).

Исходя из проведенного значительного объема исследований, можно сделать вывод, что, хотя включение фтора в соединение может повысить его растворимость в  $\text{CO}_2$ , также необходимо, **чтобы соединение было несколько полярным, если должна быть получена высокая растворимость в  $\text{CO}_2$ . Частичное фторирование соединения может привести к созданию диполей, которые повышают растворимость в  $\text{CO}_2$  за счет специфических взаимодействий с  $\text{CO}_2$** . Кроме того, увеличение до выбранного полимерного объема базируется на выборе материалов со значительной гибкостью основы, увеличивая растворимость в  $\text{CO}_2$ .

## ВОПРОСЫ

1. Что такое параметр растворимости Гильдебранда?
2. Какова формула параметра растворимости для  $\text{CO}_2$ ?
3. Какие выводы сделали Хайтт и Френсис по поводу поведения жидкого и сверхкритического  $\text{CO}_2$ ?
4. Что объясняет термин « $\text{CO}_2$ -фильность»?
5. Как полярность влияет на высокую растворимость в  $\text{CO}_2$ ?

### 1.1.2. ВАЖНЕЙШИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТВОРИМОСТИ В $\text{CO}_2$

Таким образом, мы попытаемся определить конкретные характеристики, которые необходимы для того, чтобы соединение было растворимо или смешивалось с  $\text{CO}_2$  при умеренном давлении. Определение важных характеристик, которые влияют на растворимость в  $\text{CO}_2$ , должно помочь в разработке  $\text{CO}_2$ -фильных соединений для биоматериалов и для использования в пищевой промышленности и фармацевтике. Характеристики и их важность приведены в таблице 1.

Таблица 1

#### Важнейшие характеристики усовершенствования $\text{CO}_2$ -фильных соединений

	Характеристики	Описание
1	Электронно-донорные функциональные группы	Специфические взаимодействия растворяемое вещество — растворитель (взаимодействия по кислотно-щелочному типу по Льюису, $\text{CO}_2$ — акцептор электронов)
2	Электронно-акцепторные функциональные группы	Специфические взаимодействия растворяемое вещество — растворитель (взаимодействия по кислотно-щелочному типу по Льюису, $\text{CO}_2$ — донор электронов)
3	Полярность/составляющие диполей	Взаимодействие с квадрупольным моментом $\text{CO}_2$
4	Молекулярное строение	Свободный объем и пластичность как показатели низких температур перехода в стеклообразное состояние
5	Низкое поверхностное натяжение (CED)	Слабые молекулярные взаимодействия более значимы
6	Баланс между энтропией и энтальпией смешивания	Точка убывающей «отдачи» будет в досягаемости (слишком много благоприятных взаимодействий приведут к неблагоприятной энтропии)



Первой важнейшей характеристикой является наличие функциональных групп в пределах соединения, которое может взаимодействовать конкретно с  $\text{CO}_2$  по типу льюисовских кислот/оснований. Эти функциональные группы, например карбонилы, могут быть донорами электронов и взаимодействовать с  $\text{CO}_2$ , который является акцептором электронов.

С другой стороны, соединение может иметь электронно-акцепторные группы (основание по Льюису) для взаимодействия с  $\text{CO}_2$ , которое затем будет кислотой по Льюису. Важно, что функциональные группы не должны обладать одновременно водородными связями доноров и акцепторов, что приведет к чрезмерно сильному взаимодействию **растворяемое вещество — растворитель**.

Второе потенциальное качество — это просто полярность. Соединение, разработанное для растворимости в  $\text{CO}_2$ , должно иметь некоторый полярный характер (например, диполи, способные взаимодействовать с  $\text{CO}_2$  через сильный квадрупольный момент). Важным ограничением здесь является то, что соединение не должно быть настолько полярным, чтобы доминировали взаимодействия растворенное вещество — растворенное вещество.

Третьей особенностью растворимости является молекулярная архитектура, особенно в случае больших соединений, например полимеров. Полимер должен обладать большим свободным объемом с высокой степенью гибкости. Хороший показатель гибкости полимера и большого свободного объема — низкая температура перехода в стеклообразное состояние.

Низкая плотность когезионной энергии, которая характеризуется низким поверхностным натяжением, является четвертой важной чертой растворимости в  $\text{CO}_2$ . Низкий CED (коэффициент поверхностного натяжения), близкий к  $\text{CO}_2$ , означает слабые взаимодействия растворенного вещества, по-видимому, доминирующий фактор для растворимости в  $\text{CO}_2$ . Соединение не должно сильно взаимодействовать с самим собой; активное взаимодействие  $\text{CO}_2$  с соединением не имеет существенного значения.

Растворимость представляет собой прекрасный баланс между **энтальпией смешивания** и **энтропией смешивания**. Соединение должно содержать специфические взаимодействия для благоприятной энтальпии смешивания, но есть точка уменьшения «отдачи», которая будет достигнута при слишком большом количестве конкретных взаимодействий. В этот момент будет преобладать неблагоприятная энтропия смешивания.

## ВОПРОСЫ

1. На что влияет плотность когезионной энергии, объяснить термин?
2. Объяснить термины «энтропия» и «энтальпия смешивания».
3. Перечислить важнейшие характеристики усовершенствования  $\text{CO}_2$ -фильных соединений.

## 1.2. СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ НЕРАСТВОРИМЫХ СОЕДИНЕНИЙ В $\text{CO}_2$ : ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ИНДУСТРИИ

Многие биоматериалы и фармацевтические препараты не будут растворяться в  $\text{CO}_2$  при умеренных давлениях; однако это не означает, что  $\text{CO}_2$  не может использоваться в качестве технологического растворителя. Методы преодоления ограниченной растворимости в  $\text{CO}_2$  включают использование поверхностно-активных веществ, использование сорастворителей и ковалентной модификации нерастворимых соединений с кончиками « $\text{CO}_2$ -фильных хвостов».

### 1.2.1. СУРФАКТАНТЫ

Традиционно поверхностно-активное вещество или поверхностно-активный агент представляет собой амфифильную молекулу, содержащую как гидрофильные, так и липофильные сегменты. Поверхностно-активные вещества способны формировать мицеллы, агрегаты, расположенные так, что гидрофильный сегмент взаимодействует с водной фазой, а липофильный сегмент ориентирован на взаимодействие с органической фазой. В случае растворимых в  $\text{CO}_2$  сурфактантов поверхностно-активное вещество будет содержать углекислые и углекислотные сегменты.  $\text{CO}_2$ -фильный сегмент взаимодействует с непрерывной  $\text{CO}_2$ -фазой, а  $\text{CO}_2$ -фобный сегмент может быть выбран из гидрофильных или липофильных молекул, на основе применения сурфактанта (рис. 2).  $\text{CO}_2$ -фильный материал может быть создан из любого из обсуждавшихся выше соединений, в том числе из фторированных полимеров, соединений на основе силикона и даже  $\text{CO}_2$ -фильных углеводородов. Поверхностно-активные вещества уменьшают межфазное натяжение и помогают в солюбилизации  $\text{CO}_2$ -фобных соединений, таких как полимеры и биомолекулы в  $\text{CO}_2$ .

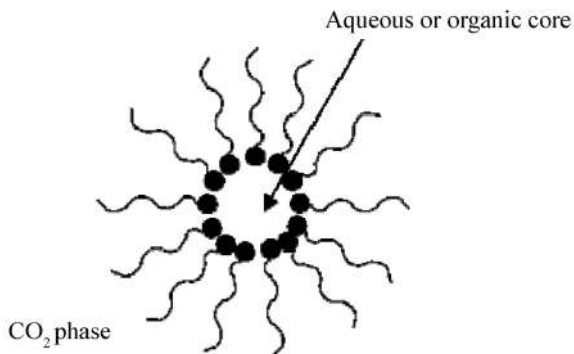


Рис. 2

Представление мицеллы в  $\text{CO}_2$ :  
черные круги являются гидрофильными или липофильными головными группами;  
волнистые линии являются « $\text{CO}_2$ -фильными хвостами» [145].

Поверхностно-активные вещества также использовались для преодоления ограничения растворимости синтетических полимеров в  $\text{CO}_2$  (наиболее распространенными синтетическими полимерами считаются « $\text{CO}_2$ -фобные»). Например, поверхностно-активные вещества были использованы для дополнительного воздействия в дисперсионной полимеризации поли(метилметакрилата) (ПММА) в  $\text{CO}_2$  (Hsiao et al.) [18]. Поверхностно-активные вещества, используемые при полимеризации ПММА, более точно называют стабилизаторами.  $\text{CO}_2$ -фобная область действует как якорь для растущего полимера, либо путем физической адсорбции, либо путем химической «прививки».

$\text{CO}_2$ -фильная область пространственно стабилизирует растущие частицы полимера, предотвращая флоккуляцию и осаждение. Когда биополимер не растворим в  $\text{CO}_2$ , конкретные поверхностно-активные вещества могут быть сконструированы таким образом, чтобы способствовать солубилизации полимера в  $\text{CO}_2$ .

Биосовместимые полимеры широко распространены в медицине. Общий биополимер, используемый в шовном материале, поли(лактид-со-гликолид) (PLGA), растворяется в  $\text{CO}_2$ , где растворимость сильно зависит от гликолида, содержащегося в позвоночнике. PLGA с 50 повторяющимися звеньями плохо растворяется в  $\text{CO}_2$  при давлениях до 3000 бар; поэтому  $\text{CO}_2$  обычно не считается эффективным растворителем для этого полимера. Однако граница фазы жидкость — жидкость бинарной системы «полимер —  $\text{CO}_2$ » сильно асимметрична (рис. 3) из-за большого различия растворенного вещества и растворителя. Это означает, что растворение небольших количеств полимера в  $\text{CO}_2$  может потребовать нецелесообразно высокого давления, растворение  $\text{CO}_2$  в полимере (т. е.  $\text{CO}_2$  в качестве разбавителя и пластификатора) является гораздо более приемлемым.

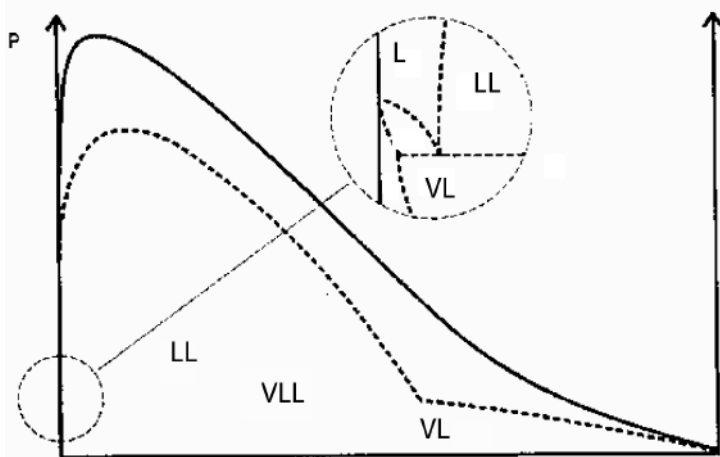


Рис. 3

Общая фазовая диаграмма смеси «полимер —  $\text{CO}_2$ »:

————— —  $T \gg T_{кр}$ ; - - - - - —  $T \ll T_{кр}$  [145].

Действительно, известно, что  $\text{CO}_2$  оказывает значительное влияние на многие аморфные полимеры ( $\leq 30\% \text{ CO}_2$ ) при умеренных давлениях ( $\sim 100$  бар), что значительно снижает температуру перехода в стеклообразное состояние. В случае биосовместимых полимеров, таких как поли(лактид-гликолид), это позволяет создавать **пены для тканевой инженерии** (без использования органических растворителей) и использовать растворители или высокотемпературные процессы плавления при смешении биологически активных молекул с полимером (Sparacio et al.) [19].

Белки и ферменты играют важнейшую роль в фармацевтике, начиная от самих фармацевтических продуктов до специализированных катализаторов для производства фармацевтических препаратов.  $\text{CO}_2$  является интересным растворителем для биоэкстракций и в качестве реакционной среды для биологических молекул вследствие его нетоксичности и легкости восстановления продукта; однако сурфактанты необходимы для солюбилизации крупных биомолекул. Джонстон и др. сначала показали, что белок, бычий сывороточный альбумин (BSA), может быть солюбилизирован в микроэмульсию вода-в- $\text{CO}_2$ , где карбоксилат аммония PFPE, поверхностно-активное вещество (молекулярный вес 740), использовали для образования микроэмульсий. Флуоресценцию использовали для контроля солюбилизации BSA (молекулярный вес 67 000), обозначенного как акрилодан (BSA-Ас), в стабильной водной среде в  $\text{CO}_2$ . Флуоресценция BSA-Ас в микроэмульсии вода-в- $\text{CO}_2$ , когда использовался сурфактант PFPE (1,4% мас. доли), была аналогична нативному BSA в буфере, pH 7,0. Генсиу и др., используя фторэфир-функциональные анионные и неионные поверхностно-активные вещества, показали, что белок можно экстрагировать из буфера или без клеток культуральной среды с сохранением большей части активности белка после восстановления путем снижения давления (Ghenciu et al.) [20].

Наконец, Де Симон и др. разработали и синтезировали амфифильные сополимеры, включающие перфторакрилатный полимер, поли(1,1,2,2-тетрагидроперфтордецил акрилат) (поли(TAN)) и поли(этиленгликоль) (ПЭГ) для образования поли(TAN-со-ПЭГ) сополимера, который должен использоваться в биодеградации (DeSimone et al.) [21]. Поли(TAN-со-ПЭГ) удалось экстрагировать BSA из водного раствора в  $\text{CO}_2$ . Холмс и др. сообщили о **первых энзимных катализируемых** реакциях в  $\text{CO}_2$ -микроэмульсиях (Holmes et al.) [22].

Основная проблема ферментативных реакций в  $\text{CO}_2$  представляет собой pH  $\approx 3$  водной фазы, когда имеется контакт с  $\text{CO}_2$  при повышенных давлениях. Холмс и др. [22] исследовали способность различных буферов для поддержания pH водного раствора в контакте с  $\text{CO}_2$ . Как биологический буфер, натриевая соль 2-(N-морфолино) этансульфоновой кислоты (MES) была наиболее эффективной, способной поддерживать pH 5, в зависимости от давления, температуры и концентрации буфера. Активность ферментов в микроэмульсиях вода-в- $\text{CO}_2$  была сопоставима с микроэмульсией в воде-в-гептане, стабилизированной сурфактантом АОТ (бис(2-этилгексил) сульфосукцинат натрия), который содержит ту же головную группу, что и di-HCF4.

Другим потенциальным применением  $\text{CO}_2$  в фармацевтике является реакционная среда для органического синтеза. С этой целью был проведен органи-

ческий синтез в микроэмульсиях с водой-в- $\text{CO}_2$ , образованных аммонием карбоксилата PFPE. Произошли нуклеофильные реакции замещения между гидрофильными нуклеофильными реагентами и  $\text{CO}_2$ -растворимыми реагентами. Выход продуктов реакции и константы скорости были на порядок больше, чем у традиционной микроэмульсии вода-в-масле в аналогичных условиях (за исключением давления), вероятно, из-за более низкой микровязкости микроэмульсии вода-в- $\text{CO}_2$ . Эмульсии вода-в- $\text{CO}_2$  также демонстрировали более высокую эффективность, чем водно-масляные эмульсии, свойства, связанные с более низким поверхностным натяжением на межфазной границе и вязкостью на границе раздела вода- $\text{CO}_2$ , чем на границе раздела вода — масло, и повышенной диффузией в  $\text{CO}_2$  (Jacobsen et al.) [23]. Наилучшие результаты продуктов реакции были получены при органическом синтезе в эмульсии вода-в- $\text{CO}_2$ , по сравнению с водно-масляными микроэмульсиями, из-за большего количества воды в эмульсии, что позволило увеличить избыток гидрофильного нуклеофильного реагента в этих реакциях.

## ВОПРОСЫ

1. Дать определение поверхностно-активных веществ.
2. Как сурфактанты влияют на  $\text{CO}_2$ -фильные и  $\text{CO}_2$ -фобные соединения?
3. Дать определение мицеллы.
4. Где используются биосовместимые полимеры?

### 1.2.2. СОРАСТВОРИТЕЛИ (КОСОЛЬВЕНТЫ)

Косольвенты могут повышать растворимость соединений в  $\text{CO}_2$  — основное положение сверхкритической экстракции  $\text{CO}_2$ . Однако полезно указать некоторые детали сорастворителей в  $\text{CO}_2$ . МакХью и др. показали, что сорастворитель может обеспечить специфические взаимодействия, которые необходимы для солюбилизации соединения в  $\text{CO}_2$  (McHugh et al.) [24]. Например, бутилакрилат (ВА) и этилгексилакрилат (ЕНА) уменьшают температуру помутнения акрилатных полимеров за счет специфических полярных взаимодействий между сорастворителем и акрилатной основой полимера.

Хотя добавление сорастворителей способствует растворению большинства материалов в  $\text{CO}_2$ , эти соединения также имеют тенденцию понижать устойчивость (и, возможно, биосовместимость) процесса. Использование некоторых сорастворителей (из-за их токсичности) может полностью уравновесить преимущества, получаемые за счет использования доброкачественного растворителя  $\text{CO}_2$ . Следовательно, нужно взвесить преимущества по сравнению с проблемами, которые сопровождают использование сорастворителей в двуокиси углерода.

## ВОПРОСЫ

1. Какие соразтворители вы знаете?
2. Положительные стороны косольвентов.
3. Отрицательные стороны косольвентов.

### 1.2.3. КОВАЛЕНТНАЯ МОДИФИКАЦИЯ

Другой способ солюбилизации нерастворимого соединения в  $\text{CO}_2$  состоит в том, чтобы ковалентно присоединить к нему  $\text{CO}_2$ -фильное соединение, обычно  $\text{CO}_2$ -фильные сурфактанты.  $\text{CO}_2$ -фильный сегмент, упомянутый как « $\text{CO}_2$ -фильный хвост», прикрепляется к  $\text{CO}_2$ -фобному сегменту, таким образом делая всю молекулу растворимой в  $\text{CO}_2$ . « $\text{CO}_2$ -фильные хвосты» были ковалентно прикреплены к биомолекулам ( $\text{CO}_2$ -фобному сегменту), образуя амфифильные молекулы, растворимые в  $\text{CO}_2$ , без необходимости в других сурфактантах. Такие молекулы имеют широкое применение в фармацевтике при биодеградации и биокатализе в  $\text{CO}_2$ .

Генсиу и Бекман разработали аффинное поверхностно-активное вещество, содержащее лиганд биотин, для извлечения авидина (рис. 4а) (Ghenciu and Beckman) [25].

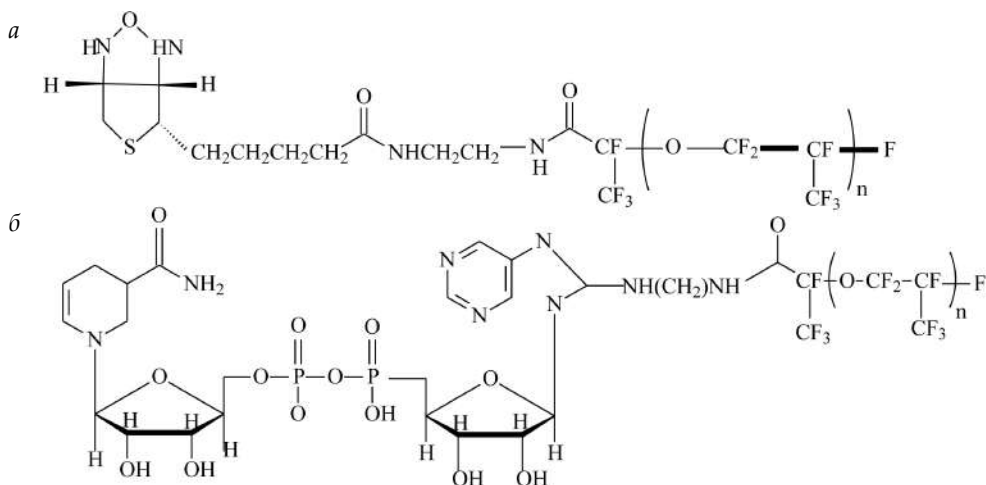


Рис. 4

Биомолекулы, модифицированные « $\text{CO}_2$ -фильными хвостами», структура: фторэфир-биотин (а), FNAD (б) [145].

Сурфактанты были приготовлены как с гидрофильным ПЭГ (полиэтил-гликолем), так и без него, а « $\text{CO}_2$ -фильный хвост» состоял из PFPE. Фазовое поведение сурфактанта зависело как от общей молекулярной массы, так и соотношения количества « $\text{CO}_2$ -фильных» к гидрофильным группам. Сурфактант, содержащий ПЭГ с разделителем, смог извлечь больше **авидина**, чем поверх-

ностно-активное вещество без разделителя, вероятно, потому, что материал PEG с разделителем имел лучшую поверхностную активность. Обратная эмульсия (20 : 80 жидкого CO<sub>2</sub> в растворе авидина) и трехфазная эмульсия (40 : 60 жидкого CO<sub>2</sub> в растворе авидина) с использованием PFPE 7500/PEG 600 были сравнены по их способности выделять авидин. Трехфазная эмульсия экстрагировала количество белка в два раза больше, чем обратная эмульсия, возможно, потому, что эта модель могла лучше разделить соединения сурфактант — белок. Для восстановления белков трехфазную эмульсию отделяют жидким CO<sub>2</sub> пока эмульсия не распадается (вследствие непрерывного удаления сурфактант-белкового комплекса).

Панза и др. синтезировали CO<sub>2</sub>-фильное амфифильное вещество из коэнзима никотинамид-адениндинуклеотида (MW 664) и ковалентно присоединенного перфторполиэфира (MW 2500) (рис. 4б) (Panza et al.) [26]. Фторфункциональный коэнзим (FNAD) растворим до 5 мМ в CO<sub>2</sub> при комнатной температуре и давлении 97 бар. Растворимый в CO<sub>2</sub> FNAD смог участвовать в циклической реакции окисления/восстановления, катализируемой энзимом алкогольдегидрогеназы лошадиной печени (HLADH), в CO<sub>2</sub> при комнатной температуре и давлении 180 бар.

Производство «CO<sub>2</sub>-фильных» молекул, особенно в случае производства биоматериалов и в фармацевтике, является достаточно сложным достижением. Основным препятствием является то, что небольшие изменения в молекулярной структуре могут оказать значительное влияние на CO<sub>2</sub>-растворимость. CO<sub>2</sub> является загадочным растворителем и многое еще неизвестно; однако несколько характеристик, по-видимому, важны для растворимости в CO<sub>2</sub>. Соединения, которые содержат одно или несколько из нижеперечисленных свойств, могут улучшать растворимость в CO<sub>2</sub>:

- 1) функциональные группы, которые взаимодействуют с CO<sub>2</sub>;
- 2) небольшая полярность или частичные диполи;
- 3) молекулярная архитектура с высокой гибкостью и высокой степенью свободы объема и низкой плотностью когезионной энергии.

Включение одного или нескольких свойств в соединение с образованием растворимой в CO<sub>2</sub> молекулы является методом проб и ошибок, поскольку должен присутствовать тонкий баланс между энтальпией и энтропией смешивания, чтобы соединение было растворимо в CO<sub>2</sub>. Биоматериалы и фармацевтические препараты, которые нерастворимы в CO<sub>2</sub>, могут быть солюбилизированы в CO<sub>2</sub> с использованием CO<sub>2</sub>-растворимых поверхностно-активных веществ, сорастворителей и ковалентной модификации с «CO<sub>2</sub>-фильными хвостами».

## ВОПРОСЫ

1. Как ковалентная модификация может влиять на CO<sub>2</sub>-растворимость (примеры)?
2. Перечислите свойства соединения, прямо влияющие на растворимость в CO<sub>2</sub>.

## **2. ФАЗОВОЕ РАВНОВЕСИЕ СИСТЕМЫ «ЖИДКОСТЬ — ТВЕРДОЕ ТЕЛО» В СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ СИСТЕМАХ**

Биодоступность твердых лекарств и эффективность их систем доставки часто ограничиваются размером, морфологией и распределением по размеру, поскольку эти факторы определяют растворимость препаратов в водной среде нашего организма. Чем меньше размер частиц твердых лекарств, тем выше их скорости растворения и их биодоступность в различных жидкостях организма. Микронизированные препараты с однородным размером и морфологией являются функционально наиболее эффективными для контролируемой доставки в конкретные органы, например сердце, легкие, ткани и кости. Сегодня фармацевтическая промышленность нуждается в перспективном методе производства микронизированных препаратов с малым отклонением по размерам для использования новых способов доставки лекарств (ингаляторы с сухим порошком, инъекции без игл и устройства с контролируемым по дозе поступлением лекарственного средства в организм). Подобно микронизации, два других процесса, микроимпрегнация и микрокапсулирование лекарств, также усовершенствуются для улучшения функциональных качеств. Существуют большие возможности для использования сверхкритического диоксида углерода ( $scCO_2$ ) в качестве активной среды во всех этих процессах, поскольку фармацевтические соединения являются термически лабильными, и микронизированные препараты должны быть свободны от любых остатков органических растворителей и посторонних включений.

Исследователи рассматривают сверхкритический  $CO_2$  как привлекательный растворитель или антирастворитель в этих процессах благодаря легкой перенастройке мощности растворителя при небольших изменениях давления и температуры и отличных транспортных свойствах носителя: например, вязкости и коэффициенту диффузии. Кроме того, сверхкритический  $CO_2$  нетоксичный, негорючий и экологически безопасен.

Основные преимущества методов использования сверхкритического  $CO_2$ :

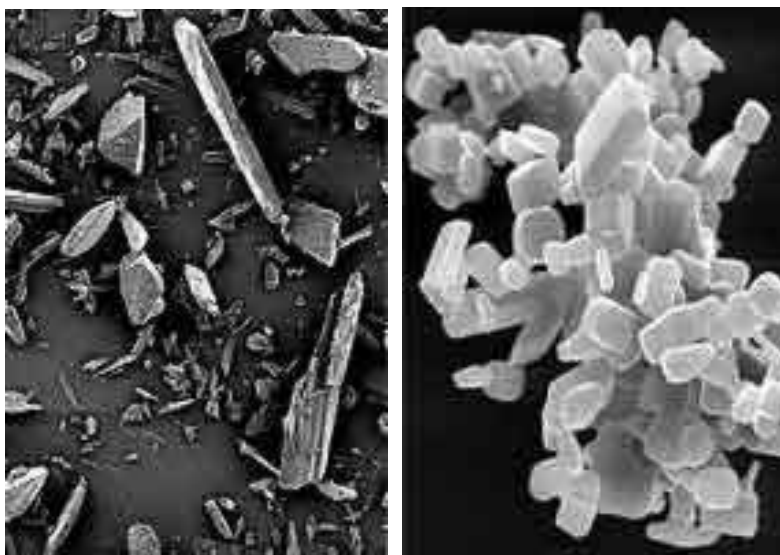
- одноступенчатая операция;
- умеренная рабочая температура;
- очень маленькое отклонение по размерам частиц с контролируемой морфологией.



Обычные способы получения мельчайших частиц включают сушку распылением, перекристаллизацию с выпариванием летучего растворителя, измельчение в шаровой мельнице и просеивание. Эти методы могут производить частицы в диапазоне от 5 до 50  $\mu\text{m}$ , тогда как пневматическое струйное измельчение может производить частицы в диапазоне от 1 до 10  $\mu\text{m}$ . Обычные методы имеют общие недостатки и плохой контроль над размером, морфологией и гранулометрическим составом порошковых лекарств, помимо некоторых других недостатков, характерных для каждого процесса.

Общий принцип техники воздействия сверхкритического  $\text{CO}_2$  включает в себя растворение фармацевтического вещества в самом сверхкритическом  $\text{CO}_2$  в качестве растворителя или в подходящем органическом растворителе, а затем быстрое снижение растворяющей способности в любом случае. Это приводит к очень высокому пересыщению/образованию центров кристаллизации растворенного вещества, чрезвычайно быстрое изменение фазы и последующее образование сверхтонких твердых частиц. Когда сверхкритический  $\text{CO}_2$  используется в качестве растворителя, мощность растворителя снижается быстрой разгерметизацией, как при **быстром расширении сверхкритического раствора (RESS)** или в процессе **образования частиц в газонасыщенном растворе (PGSS)**.

**Пояснение: Технология RESS™ (rapid expansion of supercritical solution).** В ходе этого процесса лекарственный препарат растворяется в сверхкритическом диоксиде углерода. Полученный раствор расширяется, проходя через выпускное отверстие, при этом диоксид углерода отделяется от раствора вместе с растворителем, а вещество оседает в виде мельчайших частиц (рис. 5).



**Рис. 5**

Изображение электронного микроскопа показывает необработанный парацетамол (слева) и амид никотиновой кислоты (справа) [145]

В случае если растворимость раствора низка в  $\text{CO}_2$ , то могут применяться модификаторы, например этанол. Размер частиц и их структура зависят от природы вещества, параметров давления, температуры в сборнике частиц, количества растворяемого вещества и конфигурации отверстия. Растворимость лекарственного вещества в сверхкритическом флюиде является основным требованием и в то же время главным условием разработки технологического процесса RESS™. В тех случаях, когда сверхкритический диоксид углерода не обладает растворяющей способностью в отношении вещества, могут применяться другие сверхкритические растворители или же в раствор может быть добавлен соразтворитель (второй растворитель), что позволяет усилить процесс растворения. Однако при этом не следует забывать о том, что соразтворитель остается в готовом продукте. Исключения для применения этого процесса составляют полимеры, которые достаточно плохо растворяются в сверхкритическом диоксиде углерода с или без соразтворителей.

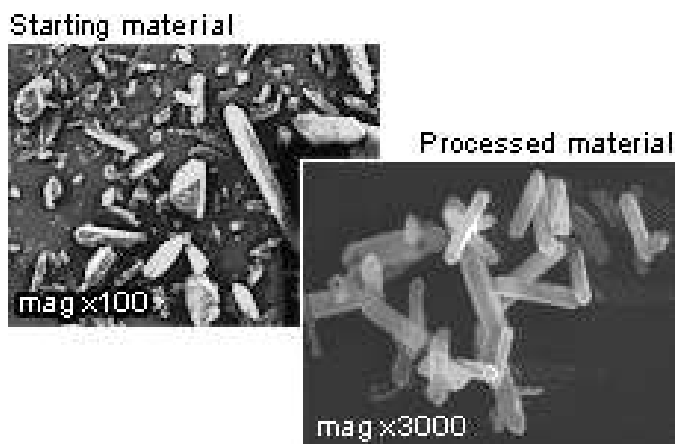
**Технология PGSS (particles from gas-saturated solutions)** — это образование микрочастиц в газонасыщенном растворе, относится к группе методов нанодиспергирования, основанных на применении сверхкритических флюидных сред, в фармацевтической промышленности используется для получения микрокапсул лечебного вещества.

Когда органический растворитель используют в качестве растворителя и  $\text{CO}_2$  в качестве антирастворителя, **растворение газообразного антирастворителя GAS** или **сверхкритического  $\text{CO}_2$  антирастворителя SAS (supercritical antisolvent)** уменьшает растворяющую способность в самом растворе. Этот процесс известен как кристаллизация антирастворителя и аналогичен выпадению в осадок со сжатым антирастворителем (PCA).

**Пояснение: Технологический процесс SAS-EM™ (сверхкритический антирастворитель с усиленным переносом вещества).** Представляет собой технологию с быстрой оптимизацией и легкостью расширения масштаба производства. В этом процессе добавление независимой вибрационной системы создает и гарантирует улучшение тончайшего измельчения и стимулирует перенос вещества. Технологический процесс гарантирует жесткий контроль как за размером частиц, так и за их формой. Размер частиц может варьировать от 50 нанометров до 50 микрон посредством подбора растворителя и управления переменными параметрами (рис. 6).

Получаемые частицы практически не отличаются друг от друга размерами. В ходе процесса лекарственный препарат растворяется в подходящем растворителе и распыляется через капилляр на вибрирующую поверхность, при этом происходит разделение потока раствора на мельчайшие капельки. Сверхкритический диоксид углерода проникает в эти капельки, работает как антирастворитель и приводит к преобразованию лекарственного препарата в крайне маленькие частицы в отдельных капсулах.

Также следует обязательно упомянуть о **методе диспергирования растворов, стимулированном с помощью сверхкритических флюидов BPD SEDS™.**



**Рис. 6**

Материал в начале технологического процесса SAS-EM™ (слева), тот же материал в конце технологического процесса (справа) [145]

Метод SEDS (solution enhanced dispersion by SCF) был разработан компанией Bradford Particle Design (BPD) (Великобритания). Сущность технологии заключается в том, что поток лекарственного вещества, растворенного в органическом растворителе, проходит через сверхкритический диоксид углерода. Во время этого прохождения происходит экстракция растворителя. Частицы вещества выпадают в собирающей камере, в которой поддерживаются параметры давления и температуры, обеспечивающие сверхкритическое состояние диоксида углерода. В результате получается качественный и стойкий лекарственный препарат, состоящий из целого ряда различных молекул. Простота метода, заключающаяся в сокращении количества этапов обработки и большей производительности, приводит к сокращению сроков разработки новых препаратов, снижению клинического риска и к сокращению издержек производства.

Эти процессы, использующие сверхкритический CO<sub>2</sub> в качестве средства обработки, были признаны перспективными для крупномасштабного внедрения в фармацевтике.

Дальше рассматриваются основные термодинамические принципы и моделирование многофазного равновесного поведения в бинарных (сверхкритический CO<sub>2</sub> — твердое тело) и тройных (сверхкритический CO<sub>2</sub> — растворитель-твердое тело) системах, необходимых для разработки процессов кристаллизации.

## ВОПРОСЫ

1. Опишите своими словами технологию RESS.
2. Опишите своими словами технологию PGSS.
3. Чем технологический процесс SAS отличается от SEDS?

### 3. РАСТВОРИМОСТЬ ТВЕРДОГО ТЕЛА И ПЕРЕНАСЫЩЕНИЕ

**Растворимость определяется как максимальное количество растворенного вещества, которое может быть растворено в заданном количестве (масса, моль или объем) раствора в условиях равновесия при заданной температуре и плотности/давлении.**

Раствор — это однородная смесь растворителя, который является жидкостью или сверхкритической текучей средой (SCF), и растворенного вещества (которое представляет собой твердое вещество, подлежащее кристаллизации). Растворимость твердого растворенного вещества в растворителе обычно увеличивается с температурой или плотностью, хотя степень увеличения зависит от взаимодействия между растворенным веществом и растворителем. Растворимость также может уменьшаться с увеличением температуры для малорастворимого растворенного вещества или при давлениях, меньших выравнивающего давления, в случае сверхкритического флюидного растворителя (SCF). Диаграмма, представляющая собой фазовое поведение твердое вещество — жидкость, газ — жидкость, твердое вещество — SCF, твердое вещество — жидкость — сверхкритический флюид или сверхкритический флюид/жидкость — жидкость — твердое вещество в состоянии равновесия, обычно описывает растворимость вещества в конкретной системе. Другими словами, растворимость определяется в терминах концентрации растворенного вещества в насыщенном растворе, при котором существует равновесие между твердым телом и фазами раствора. Раствор, в котором концентрация твердого растворенного вещества превышает равновесие растворимости, — это перенасыщенный раствор. Перенасыщение определяется как разность концентраций  $\Delta x_i$  (в мольной фракции/мас. фракции), где

$$\Delta x_i = x_i - x_i^*. \quad (1)$$

Уровень перенасыщения  $S$  получается из соотношения концентраций

$$S = \frac{x_i}{x_i^*}, \quad (2)$$

где  $x$  и  $x_i^*$  — фактические (перенасыщенные) и равновесные (насыщенные) мольные фракции соответственно растворенного вещества  $i$  при условии данной температуры и давления. Термодинамически это отношение  $S$  связано с

разностью в химическом потенциале  $\mu_i$  и с коэффициентом активности  $\gamma_i$ , поскольку мы знаем, что

$$\mu_i - \mu_i^* = RT \ln \frac{\gamma_i x_i}{\gamma_i^* x_i^*}; \quad (3)$$

$$\ln S = \frac{\mu_i - \mu_i^*}{RT} - \ln \frac{\gamma_i}{\gamma_i^*}. \quad (4)$$

Понятно, что кристаллизация представляет собой переходный процесс, связанный с изменением фазы, ведущей к образованию кристаллов. Ее скорость зависит от уровня пересыщения, что является движущей силой кристаллизации. Создание высокой степени пересыщения вызывает кристаллизацию. «Кристаллизация осаждением» также часто используется для обозначения быстрой кристаллизации и обычно относится к одновременному и относительно быстрому возникновению центров кристаллизации, роста кристаллов и их агломерации. В результате может быть получено большое количество кристаллов с относительно небольшими размерами, обычно от 0,1 до 10  $\mu m$ . Высокая степень пересыщения, необходимая для осаждения, обычно является результатом химической реакции, и такое осаждение часто называют реакционно-способной кристаллизацией.

Часто кристаллизация антирастворителя также упоминается как осаждение, поскольку она включает очень быстрое изменение фазы и образование твердой фазы из гомогенного жидкого раствора при относительно высокой степени пересыщения. Таким образом, пересыщение является наиболее важным параметром для управления процессом осаждения и физическими характеристиками образовавшихся частиц.

## ВОПРОСЫ

1. Дайте определение растворимости.
2. От каких свойств раствора зависит растворение твердого вещества?
3. Что является движущей силой кристаллизации?

### 3.1. ФОРМИРОВАНИЕ ЦЕНТРОВ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ И СПИНОДАЛЬНАЯ КРИВАЯ

Как упоминалось ранее, пересыщенный раствор не находится в равновесном состоянии. Кристаллизация делает раствор более равновесным путем ослабления его перенасыщения. Таким образом, перенасыщенный раствор нестабилен. Имеется максимальное значение перенасыщения для раствора до того, как он станет неустойчивым. Область между этой неустойчивой границей и равновесной (бинодальной) кривой называется **метастабильной зоной**, и

именно здесь происходит кристаллизационный процесс. Абсолютный предел метастабильной зоны, известный как **спинодальная кривая**, задается границей максимального предела перенасыщения, при котором зарождение происходит спонтанно. Термодинамически, спинодальная кривая в двухфазной области определяется критерием

$$\frac{\partial^2 g}{\partial x_i^2} = 0 \quad (5)$$

и бинодальной кривой, граница между однофазной областью и двухфазной областью характеризуется критерием

$$\frac{\partial^2 g}{\partial x_i^2} > 0, \quad (6a)$$

где нестабильная область растворения задается при следующих условиях:

$$\frac{\partial^2 g}{\partial x_i^2} < 0, \quad (6б)$$

где  $g$  — термодинамический потенциал раствора и задается через  $\Sigma x_i \mu_i$ . Другими словами, спинодальная кривая в двухфазной области отмечает неустойчивую область и метастабильные области. Перенасыщенные гомогенные растворы являются метастабильными, и метастабильность уменьшается с увеличением пересыщения. Другими словами, зарождение центров кристаллизации начинается после того, как концентрация растворенного вещества превысит определенное значение и растворенные молекулы начинают образовывать агрегаты или кластеры. Если, однако, кристаллы помещены в перенасыщенный раствор, раствор в конечном итоге достигает равновесия после роста кристаллов при кристаллизации.

Таким образом, кристаллизация представляет собой двухступенчатый процесс: зарождение центров кристаллизации и рост. Первый шаг — зарождение центров кристаллизации, которое происходит спонтанно, когда перенасыщение достигает метастабильного предела на спинодальной кривой. Понимание спинодальной кривой полезно для понимания всего механизма кристаллизации. Однако, фактический метастабильный предел может часто превышать спинодальную кривую в определенных системах, и в таких случаях механизм фазового перехода объясняется в терминах спинодального распада, или присутствующими примесями, или скоростью увеличения перенасыщения.

Термодинамически, изменение термодинамического потенциала для зарождения центров кристаллизации из однородного раствора дается суммой выигрыша свободной энергии (которая положительна) для образования твердой поверхности ядра (кристалла) и потери свободной энергии (которая является отрицательной) для фазового перехода. Следующее выражение Аррениуса дает скорость зарождения центров кристаллизации:

$$B_0 = A \exp\left(-\frac{\Delta g_{cr}}{kT}\right), \quad (7)$$

где  $A$  — предэкспоненциальный множитель,  $\Delta g_{cr}$  — изменение термодинамического потенциала раствора для образования ядра критического размера. Скорость зарождения центров кристаллизации увеличивается с увеличением перенасыщения и температуры и уменьшается с увеличением поверхностной энергии. Маллинз сообщает о мгновенном зарождении центров кристаллизации в водяном пару: время проявления индукции, скажем, 0,1 с возможно только при степени перенасыщения около 4 (J. W. Mullins) [27]. Таким образом, необходимо знание растворимости твердого тела для определения степени перенасыщения для разработки процесса кристаллизации. Соответственно, чтобы найти скорость зарождения центров кристаллизации и роста всех кристаллизационных процессов, поведение фазового равновесия или бинадальная кривая должны быть известны для минимально растворимого твердого вещества в сверхкритическом  $\text{CO}_2$ , как функции давления, температуры и состава.

## ВОПРОСЫ

1. Дайте определение бинадальной кривой.
2. Что такое метастабильная зона?
3. Дайте определение спинодальной кривой.
4. На что влияет изменение термодинамического потенциала в первую очередь?

## 4. ФАЗОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ

Для рационального проектирования коммерческих технологических установок важно понять равновесное поведение флюидной фазы бинарных систем с  $\text{CO}_2$  как растворителем для процессов RESS и PGSS, а также тройных систем с  $\text{CO}_2$  в качестве антирастворителя для GAS, SAS, PCA и SEDS. Этот момент, помимо знания кинетики зарождения, роста, агрегации и старения, позволяет управлять желательными путями фазового перехода для получения монодисперсных субмикронных твердых частиц с контролируемой структурой, морфологией, размером и формой. В то время как RESS включает фазовый переход из сверхкритической фазы раствора для образования твердых частиц, PGSS, GAS, SAS, PCA и SEDS связаны с фазовым переходом растворенных в сверхкритическом  $\text{CO}_2$  растворов в твердые субстанции.

Фазовые диаграммы для некоторых систем довольно просты, как и кривая растворимости для бинарных смесей, тогда как для некоторых сложных смесей трудно определяется степень пересыщения из-за большого количества присутствующих кристаллизующихся компонентов. Поэтому необходимо сделать аппроксимацию и представить сложную систему на основе тройной фазовой диаграммы, состоящей только из трех важнейших компонентов. Границы фаз, что очевидно, зависят от количества присутствующих компонентов, и этот момент объясняется ниже.

### ВОПРОСЫ

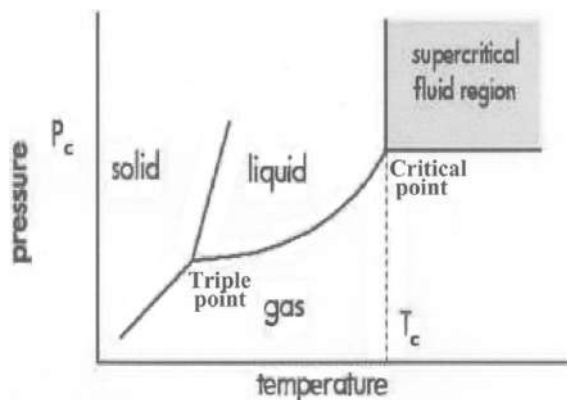
1. Что такое фазовое поведение?
2. Для чего нужно понять равновесное поведение флюидной фазы?

### 4.1. ОДНОКОМПОНЕНТНАЯ ФАЗОВАЯ ГРАНИЦА

Границы равновесной фазы между твердым телом и жидкостью (т. е. кривая плавления), твердым телом и газообразной средой (т. е. кривая сублимации), а также жидкостью и газом (т. е. кривая испарения) для одного компонента представлены линией на диаграмме давление — температура, как показано на рисунке 7. Состояние сосуществования всех трех фаз в равновесии представлено тройной точкой. Самая высокая точка на кривой испарения, которая



уникальна для данного вещества, равна так называемой **критической точке**, а сверхкритическая жидкость определяется как состояние, при котором как давление, так и температура **превышают значения критической точки для соответствующего вещества**. Жидкость теперь приобретает уникальные свойства хорошего растворителя, высокое давление и температурную зависимость растворимости некоторых твердых растворов и хорошие экстракционные характеристики. Термодинамическая степень свободы переменных равна 1 на границе раздела фаз и 0 в тройной точке и в критической точке, тогда как вне этих линий это 2 (например, давление и температура) в соответствии с правилом фаз Гиббса. Следует отметить, что некоторая энергия необходима для пересечения границы фаз, а энергия, необходимая для фазового перехода, исчезает по мере приближения к критической точке. Для достижения сверхкритического состояния обычной практикой является сначала снизить температуру газообразного  $\text{CO}_2$  до окологкритического докритического давления, чтобы сконденсировать и охладить его, и далее, для гарантии, что он накачивается до сверхкритического давления и нагревается до сверхкритической температуры.



**Рис. 7**

Фазовая диаграмма давления и температуры для одного компонента [146]

## ВОПРОСЫ

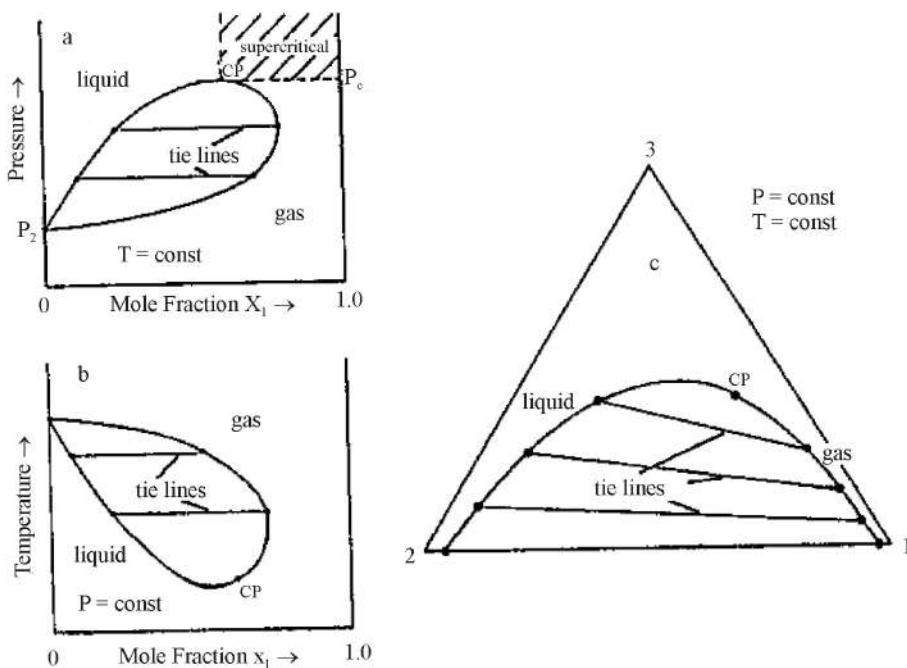
1. Что такое критическая точка?
2. Чем определяется состояние сверхкритической жидкости?

## 4.2. ДВУХКОМПОНЕНТНАЯ ФАЗОВАЯ ГРАНИЦА

Термодинамическая степень свободы для бинарной смеси на границе пар — жидкость ( $V-L$ ) равна 2. Фазовая граница представлена  $T-x$  или  $P-x$  диаграммой, и круговая диаграмма критических точек ( $V=L$ ) всех бинарных смесей находится в  $P-T$  пространстве. Критическая точка смеси ( $CP$ ) определяется как точка, в которой две фазы идентичны (т. е.  $L = V$ ). Критическая

точка бинарной смеси обозначается как критическое давление смеси или критическая температура смеси. Как показано на рисунке 8а, критическое давление смеси является самым высоким давлением на изотермальной  $P$ - $x$  диаграмме бинарной смеси, за пределами которой не имеется двухфазной области при определенной температуре. Бинарная смесь является сверхкритической при всех давлениях выше критического давления смеси, таким образом, мольная доля SCF-компонента выше его критического значения на изотермической  $P$ - $x$  диаграмме. Однако эти два компонента полностью смешиваются для всех композиций при любом давлении выше критического давления смеси.

Растворимость жидкого растворителя во флюидной фазе проходит через минимум и затем увеличивается с нарастанием давления, при высоких давлениях вблизи смеси критического давления предполагается, что температура выше критической температуры более легкого компонента,  $\text{CO}_2$ . Этот процесс очень похож на поведение растворимости твердого раствора в сверхкритическом  $\text{CO}_2$ . С другой стороны, как видно из рисунка 8b, двухфазная граница пар — жидкость может распространяться при температуре выше критической температуры смеси на диаграмме  $T$ - $x$  для конкретного давления. Таким образом, бинарная смесь не обязательно должна быть сверхкритической над ее смесью критической температуры и критического состава, и, следовательно, бинарная  $P$ - $T$  фазовая диаграмма должна приниматься с учетом всех **трех параметров, а именно: давления, температуры и состава.**



**Рис. 8**

Критические точки в бинарной (изотермической (a), изобарической (b) и тройной смеси (c)) [146]

## ВОПРОСЫ

1. Что такое бинарная смесь?
2. Как определяется критическая точка бинарной смеси?
3. Какие физические параметры должны быть учтены в фазовой диаграмме?

### 4.3. ПУТИ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ

Методы RESS и PGSS включают в себя два этапа: непрерывное растворение твердого вещества в сверхкритическом растворителе SCF или, наоборот, быстрая разгерметизация раствора (падение давления в растворе) через форсунку и образование частиц путем формирования активных центров кристаллизации путем создания однородной и очень высокой степени перенасыщения. Метод GAS работает в режиме полунепрерывного процесса, в котором раствор начинает кристаллизоваться при высоком давлении, при условии непрерывного пропускания сверхкритического  $\text{CO}_2$  через раствор в течение некоторого времени, после чего частицы отделяют от фильтрата и сушат в проточном  $\text{CO}_2$ . Преимуществом процесса GAS является последовательное относительное уменьшение растворимости растворенных веществ с увеличением растворимости  $\text{CO}_2$  при повышении давления. Это часто приводит к фракционированной кристаллизации и играет значительную роль в очистке и восстановлении желаемого биоактивного компонента в продукте, осажденном из раствора.

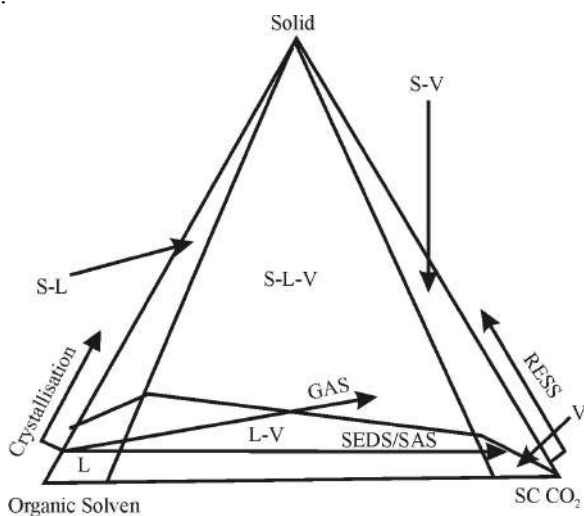
С другой стороны, SAS и SEDS работают в непрерывном режиме, при котором непрерывное добавление сверхкритического  $\text{CO}_2$  вместе с соразтворителем (в SEDS) с одновременным распылением жидкого раствора через сопло позволяет полное удаление остаточного органического растворителя после того, как сформируются частицы. Двусторонняя диффузия  $\text{CO}_2$  и растворителя, соответственно, туда и обратно, ультрамикроскопическими капельками вызывает быструю кристаллизацию с последующим полным испарением соразтворителя в потоке  $\text{CO}_2$ .

Следовательно, фазовое поведение бинарной системы, встречающееся в RESS/PGSS, и тройной системы в SAS/GAS довольно сложно. Как показано на рисунке 9, при способе RESS/PGSS твердое вещество и текучая среда очень быстро отделяются от однородной фазы, что приводит к быстрому образованию твердых микросфер или волокон.

В случае газообразного антирастворителя (GAS) или сверхкритического антирастворителя (SAS) осаждение или осаждение со сжатым антирастворителем (PCA), присутствует органический растворитель, а путь распространения реакции из области жидкого ( $L$ ) раствора в область твердое тело — флюид ( $S-I$ ), через двухфазные области жидкость — твердое тело ( $L-S$ ), жидкость — флюид ( $L-I$ ) и трехфазную область твердое тело — жидкость — флюид ( $S-L-I$ ), пересекающий ряд соединительных линий.

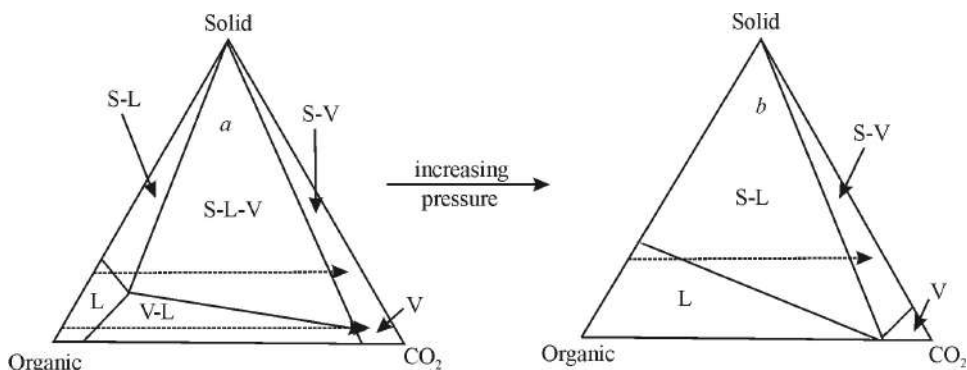
Для очень тонкого измельчения из гомогенных ( $L$ ) смесей твердое тело — жидкость с помощью процессов GAS, SAS или SEDS, большое количество фа-

зовых изменений может возникать при давлениях ниже критического состояния смеси, как показано на рисунке 9. Органический растворитель все еще присутствует на границе раздела между раствором и сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , и после кристаллизации его необходимо удалить, промыв с помощью  $\text{CO}_2$ . Но эта фазовая диаграмма изменяется с изменением давления, температуры и термодинамического состояния. Например, при давлениях выше критических условий, трансформация в процессах SAS или SEDS может произойти целиком и полностью в пределах области  $S-L$ , и, так как нет межфазной границы раздела между мельчайшими капельками и сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , траектория кристаллизации проходит из областей  $S-L$  в области  $S-V$ , как показано на рисунке 10b. Как следствие, механизмы двухстороннего массопереноса для путей перенасыщения и кристаллизации считаются различными ниже и выше комбинации критических давлений.



**Рис. 9**

Разные пути кристаллизации бинарных и тройных систем [146]



**Рис. 10**

Влияние давления на фазовое поведение тройных систем ( $S-L-V$ ) (a) и бинарных систем ( $S-L$ ) (b) [146]

Схематическая диаграмма, изображающая фазовое поведение полимер — растворитель —  $\text{CO}_2$ , представленная на рисунке 11, дает представление о пути кристаллизации, обозначенном стрелками.

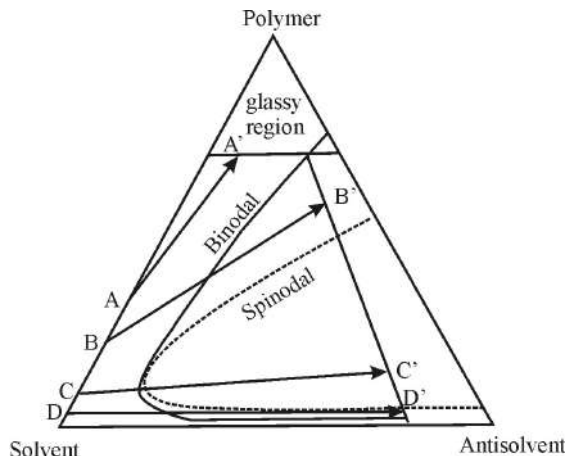


Рис. 11

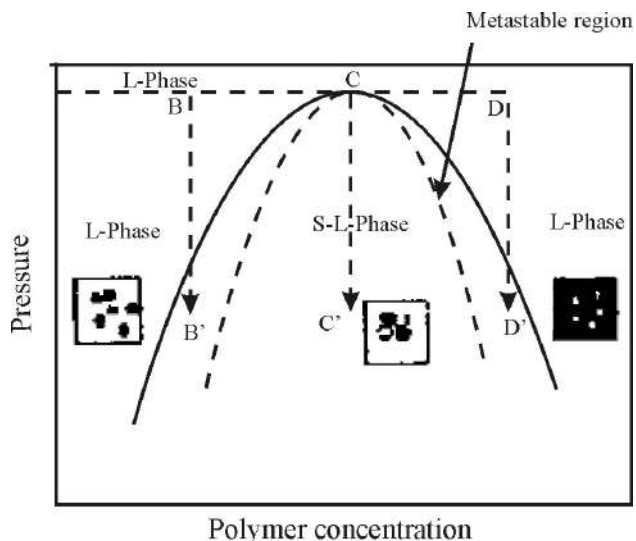
Пути кристаллизации в антирастворителе в системе полимер — растворитель —  $\text{CO}_2$  [146]

На диаграмме показаны бинодальные и спиновальные кривые для разделения фаз. Как представлено на рисунке 11, растворитель испаряется в  $\text{CO}_2$  вдоль пути  $AA'$  со слишком небольшим притоком  $\text{CO}_2$ , тем самым избегая разделения фаз, и путь кристаллизации не входит в двухфазную область. В результате полимер превращается в стекловидную массу и выглядит как более плотная частица (Dixon et al.) [28]. На пути  $BB'$  на обогащенной полимером стороне, в **точке полного смешения частично смешивающихся жидкостей**, путь переходит в двухфазную область **вне спиновальной кривой**, так как в мельчайшую взвесь капле падает достаточное количество  $\text{CO}_2$ . В результате, в растворителе зарождаются мельчайшие пустоты и растут в богатой полимером фазе до тех пор, пока полимер переходит в стекловидное состояние в пористом твердом теле.

Путь  $CC'$  входит в спиновальную область, которая характеризуется взаимно-непрерывными фазами и часто приводит к быстрому спиновальному расщеплению на составные части, которое создает мелкие структуры, а не отдельные капельки. Путь  $DD'$  находится на полимер-бедной стороне бинодальной кривой, когда приток  $\text{CO}_2$  намного больше, чем испарение растворителя. Эта тенденция направлена в противоположную сторону: после того как капелька раствора была насыщена  $\text{CO}_2$ , диффузия  $\text{CO}_2$  изменяет направление на обратное и испарение растворителя более ощутимо. Одновременно появляются мельчайшие центры кристаллизации и растут в непрерывной фазе растворителя.

В результате пористость полимера увеличивается по мере приближения пути к полимер-разбавленной фазе. На рисунке 12 показано, что путь кристаллизации либо входит в **область стеклования**, либо в область **высокой пори-**

**стости** из однородной однофазной области, в зависимости от исходной концентрации полимера. Таким образом, морфология частиц определяется путем кристаллизации, или, по-другому, важен выбор режима потери раствором своей растворяющей способности. Описание этих путей подчеркивает важность фазового поведения наряду с массопереносом для комплексного понимания и контроля за размером получаемых частиц и их морфологией.



**Рис. 12**

Влияние концентрации на морфологию полимера [146]

## ВОПРОСЫ

1. Объяснить пути кристаллизации в системе «полимер — растворитель —  $\text{CO}_2$ ».
2. Чем путь  $\text{CC}'$  кардинально отличается от  $\text{DD}'$  (рис. 11)?
3. Какие пути кристаллизации возможны?

## **5. ДИНАМИКА ЖИДКОСТИ, МАССОПЕРЕНОС И ОБРАЗОВАНИЕ ЧАСТИЦ В СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДАХ**

Сверхкритические жидкости (SCF) участвуют во многих промышленных процессах и имеют потенциально широкое поле разнообразного применения. На данный момент развития науки области применения включают экстракционные процессы, полимеризацию, фракционирование продуктов, утилизацию отходов, очистку почвы, очистку электронных и оптических деталей оборудования, пропитку, разработку сухих порошковых покрытий, аэрогели, нанотехнологии, кристаллизацию и образование микрочастиц фармацевтических препаратов и многих других порошкообразных продуктов (Perrut, 2000) [29]. Промышленные процессы, связанные с выработкой энергии, например ракеты на жидком топливе, дизель и газотурбинные двигатели, работают при сверхкритических условиях для впрыскиваемого топлива (Bellan, 2000) [30]. В данной главе рассматриваются механизмы и явления, влияющие на процессы образования частиц, связанные с использованием сверхкритических жидкостей, с особым акцентом на производство микрочастиц в фармацевтике.

Большинство этих методов основаны на кристаллизации или осаждении твердой фазы продукта из перенасыщенных растворов, в то время как перенасыщение создается в системе с помощью сверхкритических жидкостей. Гранулометрический состав частиц, морфология частиц и физические свойства твердого тела зависят от пространственного распределения перенасыщенности и распределения по времени процесса формирования частиц. Чтобы понять, как происходит избыточное насыщение растворенного вещества и прогнозировать его структуру и эволюцию во времени, необходимо учитывать остаток импульса (поток), виды (смешивание), энергию (нагрев и охлаждение) и образование частиц (гранулометрический состав частиц, PSD) и применять определенные характеристики потока и источника для сверхкритических флюидов. Физика поведения жидкости в сверхкритическом состоянии отличается от состояния, наблюдаемого в газах или жидкостях, поскольку сверхкритические флюиды (SCF) демонстрируют некоторые уникальные свойства, которые необходимо учитывать при теоретическом моделировании, аналитических исследованиях и проектировании технологического оборудования.

Материал в этой главе организован следующим образом. В разделе 5.1 мы приводим краткий обзор экспериментальных методов, используемых в наших исследованиях в качестве основы для моделирования и интерпретации данных; в разделе 5.2 мы рассмотрим кратко конкретные свойства сверхкритических жидкостей с акцентом на переходы молекулярного уровня, наблюдаемые с помощью рентгеновского рассеяния, и их влияние на параметры массопереноса и механизмы перехода; в разделах 5.3 и 5.4 представлены отдельные аспекты механики жидкости, массопереноса и смешивания в сверхкритических флюидах. В разделе 5.5 мы рассмотрим кинетику процесса осаждения, влияющего на размер частиц и их морфологию, включая влияние агрегации. В разделе 5.6 основные выводы получены из моделей образования осадков. В разделе 5.7 рассматриваются наиболее важные теоретические аспекты расширения сверхкритического процесса.

## **5.1. АНАЛИЗ СМЕШИВАНИЯ И ОСАДКООБРАЗОВАНИЯ В СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ IN SITU**

Образование частиц, дисперсия растворителей и перемешивание являются по существу неравновесными динамическими процессами, которые поэтому требуют измерений по месту таких зависящих от времени и масштаба параметров, как скорость потока жидкости, концентрация, каплеобразование и размеры частиц. Неинвазивные оптические методы хорошо поддаются количественному анализу и особенно интересны для динамических измерений. Однако для растворителей под высоким давлением, например  $\text{CO}_2$ -флюидов, существуют значительные экспериментальные проблемы, связанные с замысловатой конструкцией ячеек, воспроизводимостью и сложностью таких измерений. В частности, как показано в следующих разделах, даже самые однородные условия осаждения с минимальным противодавлением сопла сопровождаются значительными градиентами как температуры, так и концентрацией видов частиц, которые могут противодействовать оптическим измерениям в сверхкритическом потоке.

Большое количество концентраций очень мелких частиц также характерно для дисперсии и осаждения в сверхкритических флюидах (SCF), налагая жесткие ограничения на анализ размеров частиц. Поэтому было разработано несколько дополнительных методов, применяющихся для таких измерений, как указано в таблице 2 (Shekunov et al., 2000) [31]. Таблица 2 иллюстрирует физические принципы и диапазон используемых экспериментальных условий. Наиболее важным параметром является рабочее давление  $P$  по отношению к критическому давлению смеси  $P_m$ , являющемуся точкой перехода между одно- и двухфазными механизмами массопереноса (см. гл. 4 «Фазовое поведение»). Как правило, большие концентрации и температурные градиенты, создаваемые в двухфазных жидкостях, делают некоторые экспериментальные методы непригодными для количественного анализа в таких дисперсных системах.



Важным примером разработанной методики для измерений SCF является лазерная интерферометрия. Этот метод основан на простом принципе, согласно которому изменение состава жидкости или градиента концентрации обнаруживается как изменение показателя преломления жидкости, отражающееся в отклонении или удалении от наблюдаемых интерферометрических полос.

Таблица 2

**Формирование частиц в сверхкритических флюидах [38]**

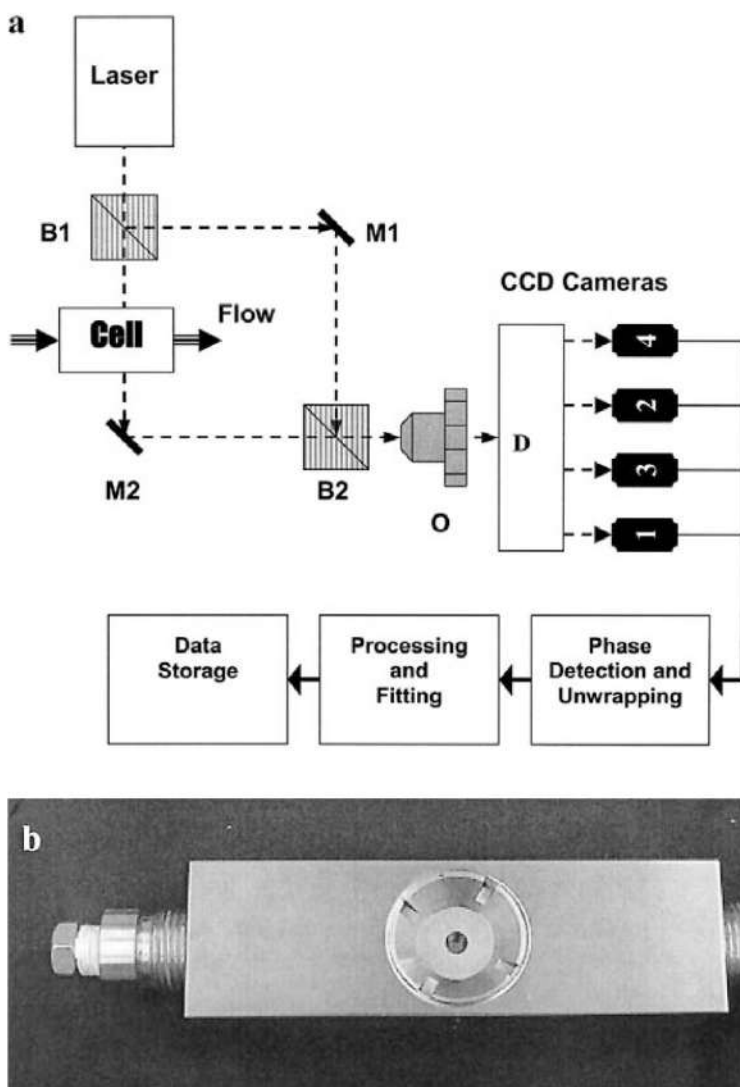
<b>Метод воздействия</b>	<b>Принцип работы</b>	<b>Возможное применение</b>
1. УФ-спектроскопия	Концентрация растворенного вещества анализируется до или после осаждения частиц	Измерение равновесной растворимости и/или концентрации вытекающего потока для расчета перенасыщения в однофазных растворах при $P > P_m$
2. Малоугловое рентгеновское рассеяние (SAXS)	Прямое рассеяние синхротронного излучения определяется локализацией жидкости по гомогенности, по шкале ниже $0,1 \mu\text{m}$	Анализ корреляционной длины и флуктуации плотности в чистых и модифицированных растворителем сверхкритических флюидах, в частности около комбинаций критических кривых ( $P \approx P_m$ ). Также измерение усредненного размера частиц и микроскопический отбор
3. Интерференционная микроскопия	Изображение капли растворителя накладывается на записанную картину интерференции диффузионного пограничного слоя вокруг капли	Комбинированные измерения поверхностного натяжения, градиента концентрации и коэффициентов массопереноса на границе раздела жидкость — газ ( $P < P_m$ ), а также измерения показателя преломления в жидкой фазе и фазе газообразования
4. Лазерная интерферометрия	Интерферометрические изображения обрабатываются онлайн для получения информации о распределении показателя преломления в потоке	Измерения концентраций и температурных градиентов при смешении в однофазных растворах ( $P > P_m$ )
5. Измерение скорости потока частиц (PIV)	Слой излучения лазера, генерирующего сдвоенный импульс, рассеивается небольшими частицами ( $0,1\text{--}10 \mu\text{m}$ ) в выбранном сечении потока. Полученные изображения анализируются с помощью корреляционных алгоритмов	Изучение характеристик потока, скорости потока, констант времени зарождения и, более качественно, размера частиц и количества частиц. Применимо к твердым частицам в однофазных растворах ( $P > P_m$ ) или для капель жидкости ( $P < P_m$ )

Метод воздействия	Принцип работы	Возможное применение
6. Лазерная дифракция	Измерения интенсивности излучения лазера прямого светорассеяния соответствуют размеру частиц в диапазоне от 0,1 до 100 $\mu\text{m}$	Распределение частиц по размерам в однофазном потоке ( $P > P_m$ )
7. Доплеровская анемометрия	Зависимые от времени флуктуации фазового модулятора оптического диапазона и интенсивность определяются каплями (диапазон размеров 1–100 $\mu\text{m}$ ), проходящими через маленькую зону измерений, создаваемую двумя лазерными лучами	Распределение размеров, количественная концентрация и скорость капель жидкости в двухфазном потоке ( $P < P_m$ )

Пространственная фаза интерферометрического метода (рис. 13а) была разработана на основе интерферометра Маха — Цендера.

Лазерный пучок наводится на оптическую проточную кювету, в то время как второй лазерный пучок используется в качестве эталона. Изображения (записанные интерференционные картины) появляются с использованием многоканального оптического декодера и цифровой видеокамеры. Параллельная компьютерная обработка этих изображений позволяет вычислить амплитуду и фазовый сдвиг полос и преобразование этой информации в уровень концентрации или градиент температуры внутри оптической кюветы. Эта технология обеспечивает очень быстрое измерение смешивания или теплопередачи в сверхкритическом потоке или визуализацию механизмов переноса массы между каплями жидкости и потоком сверхкритической жидкости. Конфокальная конфигурация этого интерферометра также позволяет создавать изображения отдельных твердых частиц и измерять их гранулометрический состав.

Наиболее важной частью любой из оптических систем, перечисленных в таблице 2, является оптическая кювета, рассчитанная на высокое давление, которая специально разрабатывается или модифицируется для каждого из экспериментальных методов. Например, кювета, показанная на рисунке 13б, имеет объем около 3 см<sup>3</sup> и может использоваться либо с высококачественными сапфировыми оконцами (толщина ~ 7 мм), либо с двумя тонкими оконцами толщиной 0,5 мм из натуральных алмазов, давая свободную площадь обзора около 3 мм. Монокристаллический алмаз является единственным материалом, прозрачным в спектре, используемом в методе малоуглового рентгеновского рассеяния (SAXS). Такие кюветы также использовались для доплеровских и лазерных дифракционных измерений, для которых требуется конфигурация поршневого течения и высокая скорость потока.



**Рис. 13**

Схема лазерного интерферометра (а). Зеркала ( $M1$  и  $M2$ ) и светоделительные кубы ( $B1$  и  $B2$ ) составляют схему компоновки устройства Маха — Цендера. Интерферометрические полосы пересекаются с изображением потока или капли в пределах оптической кюветы, представляющей объектив ( $O$ ). Оптический декодер ( $D$ ) обеспечивает четыре изображения с параллельным фазовым сдвигом, которые обрабатываются и сохраняются компьютером для получения информации о динамике массы или теплопередачи.

Оптическая кювета (b), используемая для интерферометрии, лазерной дифракции, фазовой доплеровской анемометрии или для метода малоуглового рассеяния рентгеновских (SAXS), изг. Thar Technologies Inc. (Питтсбург, Пенсильвания). Эта кювета оснащена оконцами из монокристаллического алмаза (для SAXS) [147]

Сетка для оптического метода измерения полей скорости жидкости или газа в выбранном сечении потока (PIV) была оснащена тремя высококачественными стеклами из плавленого кварца, которые обеспечивали неискаженный вид относительно широкой (20 мм) измерительной зоны при угле обзора  $90^\circ$  относительно потока. Все кюветы оснащены термостатическими алюминиевыми корпусами и предназначены для выдерживания рабочих давлений до 300 бар. Кюветы построены на модульном принципе, вследствие чего область обзора можно перемещать относительно сопла, используя разные длины секций соединительных труб, что позволяет исследователям наблюдать различные области поперечного сечения потока. Были использованы различные вставки для изменения структуры потока (например, путем устранения обратного потока) или для уменьшения длины оптического расстояния.

## ВОПРОСЫ

1. Расскажите о способах формирования частиц в сверхкритических флюидах.
2. Расскажите о методе лазерной интерферометрии.

## 5.2. СВОЙСТВА СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДОВ (SCF)

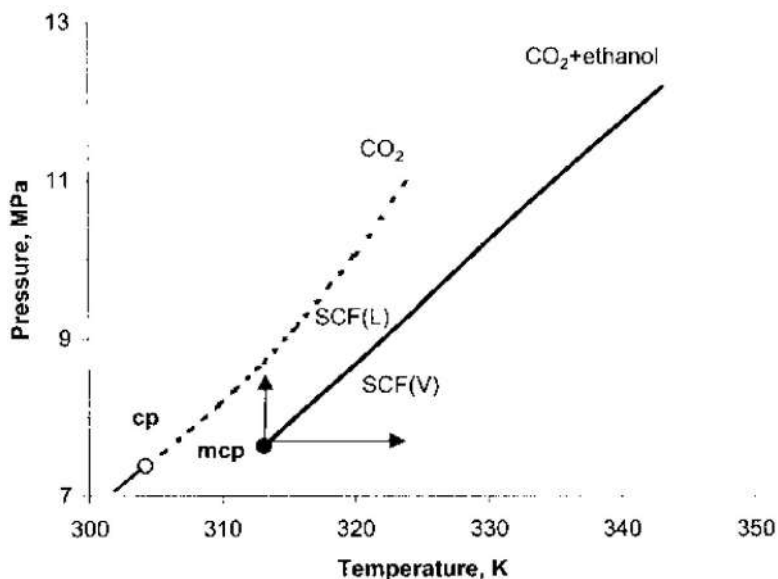
### 5.2.1. НЕОДНОРОДНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ШКАЛЫ

Согласно классической термодинамике, сверхкритическое состояние вещества достигается, когда температура и давление достигают критических значений  $T_c$  и  $P_c$  в критической точке. Часто говорят, что SCF обладают некоторыми свойствами и жидкости и газа одновременно: при жидкоподобной плотности они могут иметь газоподобную вязкость, проводимость и диффузию. Надо признать, что сверхкритические свойства возникают не от самой плотности, а от неоднородности молекулярного распределения в сверхкритических флюидах. На характеристической микрошкале от около 10 до 100 Å сверхкритическое состояние определяется статистическими объектами с увеличенной плотностью со структурой, подобной структуре жидкостей, окруженных менее плотными и более хаотичными участками сжатого газа. Количество и размеры этих объектов-кластеров значительно различаются с ростом давления и температуры, что приводит к высокой сжимаемости вблизи критической точки.

Растворяющая способность жидкости зависит от ее плотности, а это означает, что растворимость в SCF может непрерывно изменяться в узком диапазоне давлений. Когда органический сорастворитель смешивают со сверхкритическим флюидом, поведение смеси становится более сложным. Даже в области давление — температура — мольная фракция ( $P$ – $T$ – $x$ ), которую можно термодинамически считать в сверхкритическом состоянии, некоторые участки будут

«более сверхкритическими», чем другие, в части как молекулярной структуры, так и полученных свойств массопереноса. Поэтому важно количественно определить границы условий процесса, при котором происходит переход в сверхкритическое состояние.

Например, на рисунке 14 показана критическая кривая смеси  $P$ – $T$ , образованная критическими точками смеси ( $mcp$ ) этанол- $\text{CO}_2$ . Смесь становится сверхкритической в точке ( $mcp$ ) с увеличением давления и температуры для данной мольной фракции сольвента.

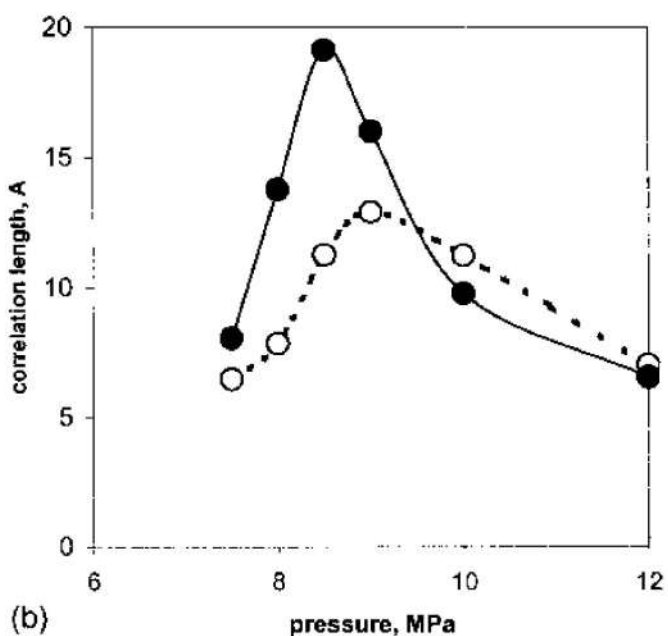
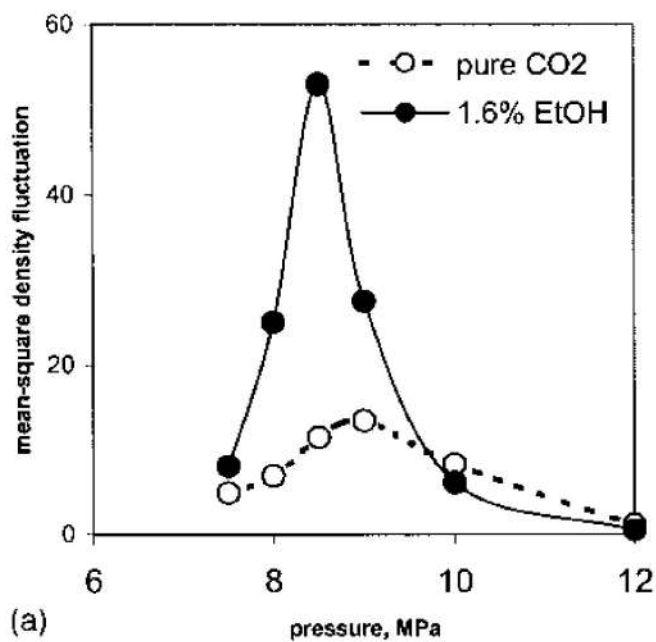


**Рис. 14**

Критическая кривая смеси  $P$ – $T$  (сплошная линия) для этанола- $\text{CO}_2$ , построенная согласно уравнению состояния Пенг — Робинсона, также показана пограничная кривая двух фаз: газа и жидкости для чистого  $\text{CO}_2$  (пунктирная линия) [147]

В сверхкритическом состоянии более плотное, «жидкоподобное» состояние  $\text{SCF} (L)$  можно идентифицировать выше этой кривой, тогда как парообразное состояние  $\text{SCF} (V)$  относится к диапазону условий, характеризующихся более низким давлением и более высокой температурой. Структурные изменения в таких смесях изучены с помощью метода малоуглового рассеяния рентгеновских лучей (Shekunov et al., 2003) [31]. Средний размер кластера определен по корреляционной длине Орнштейна — Цернике  $\xi$ , а число кластеров описывается среднеквадратическим числом колебаний плотности  $(\Delta N)^2/N$ , которое непосредственно связано с термодинамическим коэффициентом изотермической сжимаемости.

На рисунке 15 показано поведение этих параметров в зависимости от давления для чистого диоксида углерода и смеси этанол- $\text{CO}_2$ .



**Рис. 15**

Флуктуация средней квадратичной плотности (a) и корреляционная длина (b) как функции давления при постоянной температуре 313,1 К для чистого CO<sub>2</sub> и смеси, содержащей 1,6 мол.% этанола [147]

Подобно  $\xi$ , функция  $(\Delta N)^2/N$  имеет максимум. Для чистого  $\text{CO}_2$  этот максимум совпадает с вершиной на протяженности кривой взаимного сосуществования газа и жидкости.

Эта вершина также очень близка к критической изохоре, когда плотность сверхкритического флюида равна критической плотности. Однако это максимальное смещение к более низким давлениям, и оно становится более выраженным с добавлением сорастворителя.

Мольная доля этанола, необходимая для получения максимальной флуктуации, варьируется в зависимости от плотности сверхкритического флюида. Shekunov et al. [32] показали, что при  $P > P_m$ , мольная доля этанола, соответствующая этому максимуму, меньше, чем в точке  $mcr$ , изменяя весь характер флуктуации. Другими словами, при смешивании сверхкритического флюида и жидкого сорастворителя смесь будет проявлять сверхкритические свойства только при определенной периодически возникающей композиции, которая зависит от давления и температуры.

Как обсуждалось Локеманном и Шлюндером, корреляционная длина  $\lambda$  является мерой межфазной зоны смешения в сверхкритическом состоянии, где флуктуации в сверхкритическом флюиде приводят к значительному противодействию массопереносу (Lockemann and Schlunder, 1996) [33]. Добавление сорастворителя в концентрациях выше, чем в композиции критической смеси, преобразует флюид в жидкое подкритическое состояние. Увеличение давления до 3 МПа (рис. 15) преобразует физические свойства сверхкритического флюида, которые характерны для сжатых газов при более низких давлениях до давления жидкого состояния при более высоких давлениях.

## ВОПРОСЫ

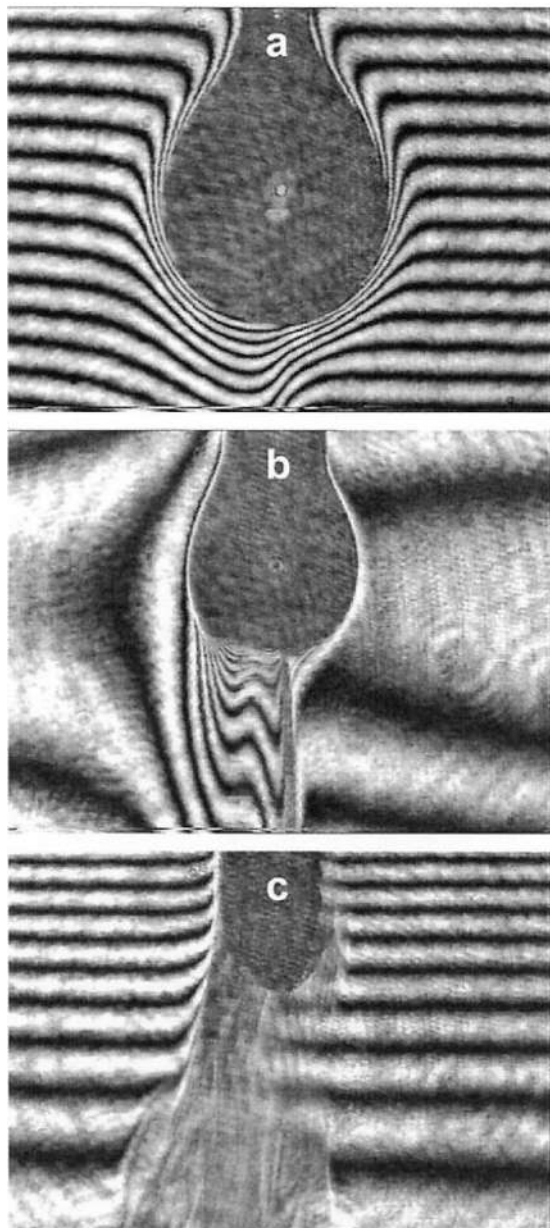
1. Поясните свойства сверхкритического флюида.
2. Как жидкий сорастворитель влияет на свойства сверхкритического флюида?

### 5.2.2. ФАЗОВЫЙ ПЕРЕХОД

Очень важный аспект фазового поведения в системе, состоящей из летучих органических растворителей, например этанола, и сверхкритического флюида ( $\text{CO}_2$ ), заключается в том, что критическое давление смеси  $P_m$  совпадает с фазовым переходом вещества в другое агрегатное состояние: жидкости в пар.

Это означает, что выше  $P_m$  существует одна фаза для всех композиций растворителей, тогда как двухфазная область (богатая этанолом и двуокисью углерода) находится ниже этой кривой. Этот факт имеет важные последствия для массопереноса и механизмов осаждения. Полная смешиваемость жидкостей выше значения  $P_m$  означает, что нет определенной или стабильной границы раздела газ — жидкость или границы раздела двух жидких сред, соответствен-

но поверхностное натяжение сводится к нулю, а затем термодинамически становится отрицательным. Этот эффект можно наблюдать с помощью интерферометрии, как показано на рисунке 16. Относительно большие капли ниже уровня  $P_m$  (рис. 16a) уменьшаются значительно в переходной области в окрестности значения  $P_m$  (рис. 16b) и в конечном итоге становятся меньше, чем внешний капиллярный диаметр выше значения  $P_m$  (рис. 16c), после чего форма капли или кривизна больше не могут быть идентифицированы.



**Рис. 16**

Поведение капель этанола  
в чистом  $\text{CO}_2$   
при температуре 363,15 К  
и давлениях 8 МПа (a),  
12 МПа (b) и 13,5 МПа (c),  
соответственно.

Интерферометрические  
полосы показывают  
диффузию пограничного слоя  
(a, b) или смешанный поток (c).

Диаметр капли в (a)  
примерно равен 1,6 мм [147]



Массоперенос ниже критического давления смеси  $P_m$  протекает через диффузионный пограничный слой, который похож на испарение капель во время распылительной сушки. Переходная область между этими состояниями соответствует кривой  $msr$  на рисунке 15, отдельно принимая во внимание, что динамическое поверхностное натяжение на границе слоя стремится увеличить  $P_m$ . Выше уровня критического давления смеси  $P_m$  происходит конвективное перемешивание, как в случае докритических смешивающихся жидкостей (например, этанола и воды). Но существует значительная количественная разница, когда происходит массоперенос в жидкости и в сверхкритической жидкости, как показано далее.

## ВОПРОСЫ

1. Поясните своими словами свойства фазового перехода.
2. Что такое диффузионный пограничный слой?

### 5.2.3. ПАРАМЕТРЫ МАССО- И ТЕПЛОПЕРЕДАЧИ

Вязкость, диффузия и теплопроводность сверхкритических флюидов являются промежуточными по значениям между свойствами жидкостей и газов. Это видно из соответствующих безразмерных величин. Число Шмидта ( $Sc = r/D_m$ ) представляет относительную значимость соотношения рассеяния импульса к масс-диффузии, где  $D_m$  и  $r$  обозначают коэффициент молекулярной диффузии и коэффициент кинематической вязкости соответственно.

Число Шмидта для сверхкритических флюидов принимает значения, аналогичные значениям, характерным для газовых смесей (порядка 1 или более), до  $Sc \sim 10$ . При  $Sc > 1$  деформация жидкости происходит быстрее, чем молекулярная диффузия, что означает, что зоны, потоки и массы несмешанного компонента могут сохраняться в однофазных системах. Это явление наблюдается в жидкостях ( $Sc \gg 1$ ), а также в сверхкритических жидкостях при  $Sc > 1$ .

Число Прандтля ( $Pr = r/D_t$ ) является важным показателем соотношения рассеяния импульса к теплопроводности (конвективный теплообмен). Для сверхкритических флюидов  $Pr > 1$  и больше, чем в газовой фазе ( $Pr \approx 1$ ). Это означает, что диффузия тепла в сверхкритических флюидах несколько медленнее, чем рассеяние импульса, и во время перемешивания могут быть созданы некоторые «горячие точки».

Отношение величины теплопроводности к масс-диффузии выражается числом Льюиса  $Le = D_t/D_m$ . В газовых средах  $Le \approx 1$ , тогда как в жидкостях  $Le$  находится в диапазоне от 10 до 100, что указывает на более высокую диффузию тепла, чем массы. Харстад и Беллан изучали проблему Льюиса в сверхкритических условиях. Они показали, что эффективное значение числа Льюиса может быть в 2–40 раз больше, чем традиционно рассчитанное число Льюиса, благодаря комбинированному влиянию малого коэффициента масс-диффузии и раз-

ности между специфическими энтальпиями двух смешанных видов (K. Harstad, J. Bellan, 1999) [34]. Масс-диффузионный коэффициент  $\alpha_d$  — это термодинамический параметр, который действует для преобразования результирующей диффузии ( $D_{eff} = D_{mod}$ ) в масс-диффузионный поток Фика. Мы вернемся к применению масс-диффузионного коэффициента, когда будем рассматривать «неравновесное» термодинамическое влияние. Как показали Лу и Миллер, «неравновесные» эффекты, которые могут быть значительными в сверхкритических жидкостях, могут привести к генерации перепадов концентрации; аналогичным образом диффузия энергии может произойти из-за перепадов концентрации (термодиффузионные эффекты Дюфура и Соре).

## ВОПРОСЫ

1. Сформулируйте определение числа Шмидта.
2. Сформулируйте определение числа Прандтля.
3. Какие величины может приобретать число Льюиса в сверхкритических флюидах в отличие от числа Льюиса в газообразной среде?

### 5.2.4. РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ПОДКРИТИЧЕСКИМИ И СВЕРХКРИТИЧЕСКИМИ ЖИДКОСТЯМИ

Из приведенных выше данных следует, что различия между подкритическими и сверхкритическими жидкостями определяются:

- снижением поверхностного натяжения с последующим фазовым переходом около точки *msr*;
- неоднородностью молекулярной структуры (кластеризацией растворов) в смесях, наиболее выраженной в области  $P$ – $T$  между точкой *msr* и кривой жидкость — пар в случае сверхкритического флюида без модификатора;
- величиной и поведением параметров массопередачи и теплопередачи.

Сверхкритические условия при давлениях выше ( $P > P_m$ ) или ниже ( $P < P_m$ ) совокупной критической кривой приводят к различным механизмам кристаллизации и агрегации. В первом случае нет межфазного натяжения и массоперенос определяется потоочно-молекулярными диффузионными взаимодействиями при перемешивании, определяемом как струйное перемешивание. Во втором случае происходит межфазное натяжение и механизм смешивания основан на распылении на небольшие капли, в то время как энергия и молекулы переносятся между каплями и окружающей их средой. Мы будем называть эти процессы «дисперсией капель» и «массопереносом». Нужно отдельно рассмотреть поведение сжимаемой однородной фазы сверхкритического флюида и двухфазной системы, где важны такие явления, как нарушение устойчивого равновесия и распад капель. Переход одного механизма в другой происходит внутри очень узкого интервала давлений и температур и имеет резко выраженный эффект, нацеленный на образование частиц. На молекулярном уровне ко-

лебания плотности в сверхкритическом флюиде производят гетерогенность перенасыщения и диффузионного потока и могут приводить к увеличению плотности ядер. Перемещение растворенных молекул в ядра может быть меньше в сверхкритическом флюиде, что приводит к получению неагломерированных микрочастиц, как показано далее.

## ВОПРОСЫ

1. Чем определяются различия между подкритическими и сверхкритическими жидкостями?
2. Объясните физический смысл точки *тср*.

## 5.3. СТРУЙНОЕ СМЕШИВАНИЕ

### 5.3.1. ИЗОТЕРМИЧЕСКОЕ СМЕШИВАНИЕ

Рассмотрим поток однофазной смеси сверхкритического флюида, который может наблюдаться выше критического давления смеси  $P_m$ , как видно на рисунке 14. Поскольку процессы образования частиц с использованием сверхкритических флюидов обычно осуществляются в турбулентном режиме течения, мы рассматриваем турбулентные потоки. В этом параграфе предполагаются изотермические условия, чтобы отличать чистые эффекты флюидного потока. При типичных сверхкритических условиях, сверхкритический флюид представляет собой плотную жидкость, а локальная плотность жидкости сильно зависит от давления и состава в данной точке. Для прогнозирования влияния давления на плотность жидкости, часто используется уравнение состояния Пенг — Робинсона (EOS) благодаря точным предсказаниям плотности при высоких давлениях и его относительно простой форме (D. Y. Peng and D. B. Robinson, 1976) [35].

$$P = \frac{RT}{V - B} - \frac{A}{V^2 + 2VB - B^2}, \quad (1)$$

где

$$A = 0,457236 \frac{R^2 T_c^2}{P_c} \left[ 1 + C \left( 1 - \sqrt{\frac{T}{T_c}} \right)^2 \right], \quad B = 0,077796 \frac{RT_c}{P_c}; \quad (2)$$

$$C = 0,37464 + 1,54226\omega - 0,26992\omega^2, \quad (3)$$

где  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $\omega$  — ацентрический коэффициент субстанции.

Для смесей два параметра, определяющих уравнение состояния:

$$A_m = \sum_{\alpha} \sum_{\beta} X_{\alpha} X_{\beta} A_{\alpha\beta} \quad \text{и} \quad B_m = \sum_{\alpha} \sum_{\beta} X_{\alpha} X_{\beta} B_{\alpha\beta}. \quad (4)$$

В уравнении (4) суммирование представляет собой  $\Sigma$  по обоим видам. Элементы по диагонали матриц  $A_{\alpha\beta}$  и  $B_{\alpha\beta}$  эквивалентны их эквивалентам химически чистого вещества. Параметры Пенг — Робинсона  $A_{\alpha\beta}$  и  $B_{\alpha\beta}$  представляют соответствующий набор правил смешивания, которые различаются для разных уравнений состояния и могут иметь много вариаций даже для одного и того же уравнения состояния. Рекомендуемые правила смешивания:

$$A_{\alpha\beta} = \sqrt{A_\alpha A_\beta} (1 - k_{\alpha\beta}) \quad \text{и} \quad B_{\alpha\beta} = \frac{1}{2} (B_\alpha + B_\beta). \quad (5)$$

Коэффициент двойного взаимодействия  $k_{\alpha\beta}$  является функцией рассматриваемого вида и принимается равным  $k_{\alpha\alpha} = 0$ .

Поток сверхкритического флюида в изотермических условиях регулируется общим уравнением сохранения потока:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_i} (\rho u_i) = 0, \quad (6)$$

где  $u_i$  —  $j$ -я декартова компонента скорости жидкости;  $t$  — время;  $\rho$  — плотность жидкости,  $\rho = M_i x_i + M_j x_j / V$ . Повторные индексы означают суммирование по всем направлениям координат;  $V$  — молярный объем смеси.

Уравнение сохранения импульса выглядит как

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho u_i) + \frac{\partial}{\partial x_i} (\rho u_i u_j) = - \frac{\partial p}{\partial x_i} + \frac{\partial}{\partial x_j} \left[ \mu \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} - \frac{2 \partial u_{ik}}{\partial x_k} \delta_{ij} \right) \right], \quad (7)$$

где  $P$  — статическое давление,  $\mu$  обозначает молекулярную вязкость;  $\delta_{ij}$  — коэффициент Кронекера. Для применения относительно простого гидродинамического моделирования (CFD) (модель  $k - \epsilon$ , модель напряжений по Рейнольдсу) и включая влияние переменной плотности, может быть использовано усреднение по Фавру. Усреднение по Фавру основывается на оценке усредненных величин локальным, текущим значением плотности. Локальное усреднение по Фавру  $\tilde{y}$  переменной поля  $y$  выглядит как

$$\tilde{y} = \frac{\overline{\rho y}}{\bar{\rho}}, \quad (8)$$

где черта над переменной обозначает обычно усреднение по Рейнольдсу, а тильда обозначает усреднение по Фавру. Переменные поля можно разложить следующим образом:

$$y = \tilde{y} + y'' = \bar{y} + y', \quad (9)$$

где один штрих обозначает отклонение относительно усреднения по Рейнольдсу, а двойной штрих — отклонение относительно усреднения по Фавру. Уравнение сохранения масс с усреднением по Фавру выглядит следующим образом:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial \rho}{\partial x_j} (\bar{\rho} \tilde{u}_j) = 0, \quad (10)$$

и уравнение сохранения импульса с усреднением по Фавру выглядит как

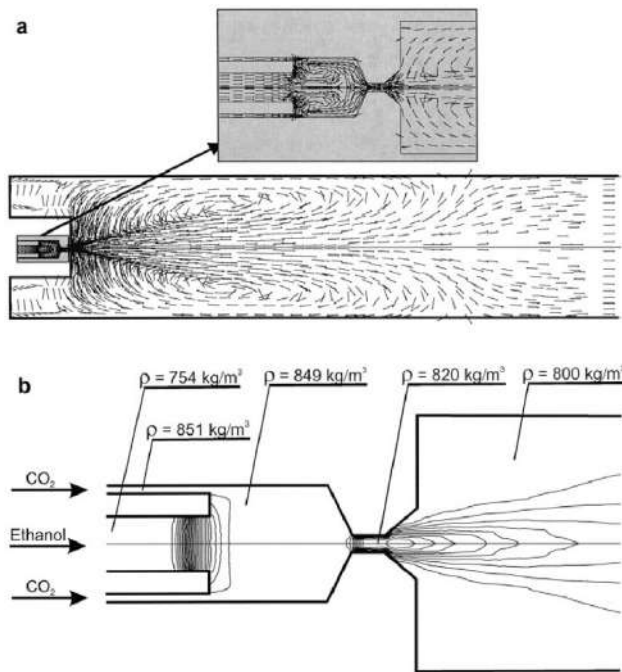
$$\frac{\partial}{\partial t}(\bar{\rho}\tilde{u}_i) + \frac{\partial}{\partial x_j}(\bar{\rho}\tilde{u}_i\tilde{u}_j) - \frac{\partial}{\partial x_j}(\tau_{ij}) = -\frac{\partial \bar{p}}{\partial x_i}, \quad (11)$$

где напряжение усреднения по Фавру относительно усреднения по Рейнольдсу выглядит как

$$\tau_{ij} = -\bar{\rho}\tilde{u}_i''\tilde{u}_j'' = -\bar{\rho}\tilde{u}_i'\tilde{u}_j'. \quad (12)$$

Уравнения (11) и (12) не решены; применение модели  $k-\epsilon$  для решения этой системы уравнений в частных производных позволяет эффективно вычислять поле скоростей течения.

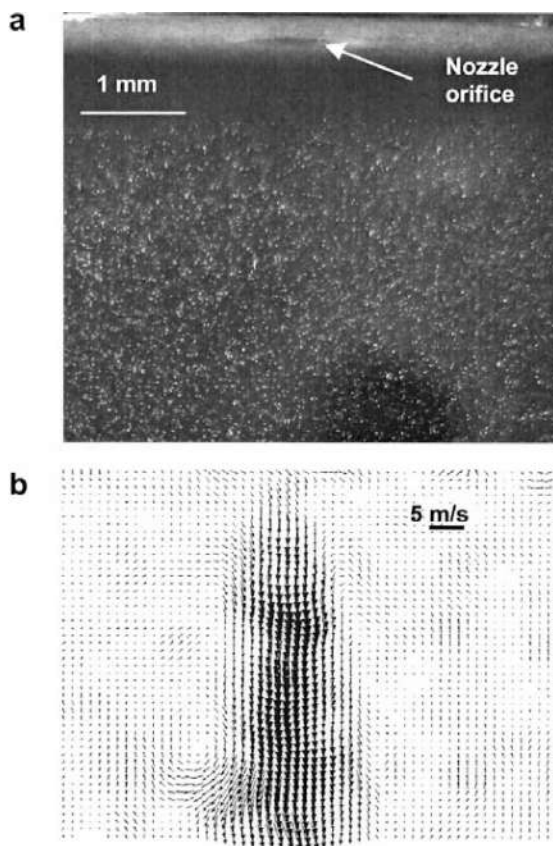
На рисунке 17б показаны выборочные вычисления, иллюстрирующие скорость и распределение плотности смеси  $\text{CO}_2$  — этанол в смесительной форсунке при SEDS-процессе (диспергирование раствора, стимулированного сверхкритическим флюидом) при  $P > P_m$ . На рисунке 17а показано, что как для камеры форсунки, так и сосуда для образования частиц в струйном поле важна интенсивная циркуляция. На рисунке 17б показано изменение средней плотности, возникающей в результате смешивания сверхкритического диоксида углерода с этанолом в камере форсунки и изменение давления в форсунке и в емкости формирования частиц.



**Рис. 17**

Схема потока из двухкомпонентной смешивающей форсунки в камере осаждения (а).  
Распределение плотности жидкости в этой системе при давлении 20 МПа  
и температуре 323,1 К в камере осаждения (б) [147]

На рисунке 18 показано экспериментальное поле скоростей, полученное для такой форсунки с помощью метода PIV (оптический метод измерения полей скоростей жидкости и газа в выбранном сечении потока) (табл. 2). Ясно видна циркуляция вокруг струи. Этот поток играет важную роль в перенасыщении, как показано далее.



**Рис. 18**

Изображение кристаллов ацетаминофена (средний размер  $\sim 3 \mu m$ ) (a), полученных при осаждении из раствора этанола с помощью сверхкритического  $CO_2$  (b).

Шаблон струйного режима, полученный путем применения автокорреляционного алгоритма PIV к этому изображению.

Условия соответствуют представленным на рисунке 17 [147]

Мы рассмотрели ситуацию только одной фазы для любого смесового состава; это означает, что поверхностное натяжение отсутствует и поведение жидкости полностью характеризуется турбулентным потоком, описываемым уравнениями сохранения массы и импульса. Чтобы решить эти уравнения, нужно смоделировать диффузионное перемешивание веществ, присутствующих в системе, и идентифицировать локальные значения термодинамических свойств и характеристик массопереноса.

## ВОПРОСЫ

1. От каких параметров зависит локальная плотность сверхкритической жидкости?
2. На чем основывается усреднение по Фавру?

### 5.3.2. СМЕШИВАНИЕ И ТЕПЛОПЕРЕНОС

Рассмотрим снова однофазное перемешивание (для  $P > P_m$ ). Мы хотели бы следить за ходом турбулентного смешивания химически пассивного индикатора со сверхкритическим флюидом. Трассирующее вещество затем перераспределяется по смесительной камере, колебание концентрации уменьшается из-за смешивания по молекулярной шкале (микроремешивание), также меняется температура из-за эффектов энтальпии смешения и рассеяния энергии, а также эффекта Джоуля — Томсона.

Моделирование подобного процесса нужно начинать с балансов импульса и массы. Моделирование основано на усреднении Фавра, уравнение (8), поэтому мы применим формулы (10) и (11) вместе с балансом для кинетической энергии турбулентности  $\tilde{k}$  и скоростью гашения энергии потока  $\tilde{\epsilon}$ . Распределение среднего значения смешанной фракции  $\tilde{f}$  и ее дисперсии  $\tilde{\sigma}^2$  вычисляется с помощью следующих уравнений:

$$\frac{\partial}{\partial t}(\bar{\rho}\tilde{f}) + \frac{\partial}{\partial x_j}(\bar{\rho}\tilde{u}_j\tilde{f}) = \frac{\partial}{\partial x_j}\left[\bar{\rho}(D_T + D_m)\frac{\partial \tilde{f}}{\partial x_j}\right]; \quad (13)$$

$$\frac{\partial}{\partial t}(\bar{\rho}\tilde{\sigma}^2) + \frac{\partial}{\partial x_j}(\bar{\rho}\tilde{u}_j\tilde{\sigma}^2) = \frac{\partial}{\partial x_j}\left[\bar{\rho}(D_T + D_m)\frac{\partial \tilde{\sigma}^2}{\partial x_j}\right] + 2D_T\left(\frac{\partial \tilde{f}}{\partial x_j}\right)^2 - \frac{R\tilde{\epsilon}}{\tilde{k}}\tilde{\sigma}^2, \quad (14)$$

где  $R \approx 2$ . Уравнение (14) справедливо для  $S_c \leq 1$ ,  $D_m$  и  $D_T = \frac{C_\mu \tilde{k}^2}{S_c \tilde{T}^\epsilon}$ , обозначающих молекулярную и турбулентную диффузию, соответственно. Смешанная фракция  $f$  представляет собой величину концентрации жидкости, подаваемой в систему из выбранной точки подачи.

$$f = \frac{Y_\alpha - Y_{\alpha,1}}{Y_{\alpha,2} - Y_{\alpha,1}}, \quad (15)$$

где  $Y_j$  — массовая доля индикатора, подаваемого в систему через подачу в точке 2. В случае  $Sc \gg 1$  дисперсию концентрации можно разделить на три части по масштабу неоднородности и связанному с ней механизму смешивания. Можно выделить инерционно-конвективные, вязко-конвективные и вязко-диффузионные механизмы смешивания и описать их с использованием несколько временных констант для смешивания (J. BaJdyga, M. Henczka, 1997) [36].

Такие сложные модели позволяют включать влияние эффектов молекулярной вязкости и диффузии на скорость смешивания в молекулярном масштабе. Локальные величины таких свойств флюида, как плотность, молекулярная вязкость и молекулярная диффузия, зависят от температуры, что означает, что балансы смеси и балансы дисперсии концентрации должны решаться вместе с уравнением сохранения энергии, которое в форме усреднения по Фавру выглядит следующим образом:

$$\frac{\partial}{\partial t}(\bar{\rho}\tilde{h}) + \frac{\partial}{\partial x_j}(\bar{\rho}\tilde{u}_j\tilde{h}) = \frac{\partial}{\partial x_j}\left[\frac{k_{eff}}{C_{pm}}\frac{\partial\tilde{h}}{\partial x_j}\right] + \tau_{ij}\frac{\partial\tilde{u}_i}{\partial x_j} + \frac{\partial}{\partial x_j}\left[\sum_{\alpha=1}^N\tilde{h}_{\alpha}\left\{\bar{\rho}D_{eff} - \frac{k_{eff}}{C_{pm}}\right\}\frac{\partial\tilde{Y}_{\alpha}}{\partial x_j}\right] + S_h, \quad (16)$$

где  $k_{eff}$  — эффективная проводимость ( $k_{eff} = k + k_T$ , здесь  $k_T$  — турбулентная теплопроводность);  $h$  — полная энтальпия;  $h_{\alpha}$  — энтальпия для видов  $\alpha$ ;  $S_h$  представляет дополнительные источники. Для ввода в уравнение (16) влияния эффектов теплоты смешивания можно использовать так называемую интегральную теплоту растворения  $Q_m$  (на единицу массы смеси) и  $Q_{m\alpha} = \bar{Q}_m/Y_{\alpha}$  (на единицу массы интересующей компоненты). Таким образом, изменение  $Q_m$  с изменением концентрации выглядит как

$$\frac{\partial\bar{Q}_m}{\partial Y_{\alpha}} = \frac{\partial Q_m}{\partial Y_{\alpha}}Y_{\alpha} + Q_m. \quad (17)$$

Вычислим зависимость  $Q_m$  от концентрации в уравнении состояния Пенг — Робинсона. Получающийся тогда в результате источник энергии  $S_h$  зависит от локального градиента концентрации, локальной скорости жидкости и плотности жидкости:

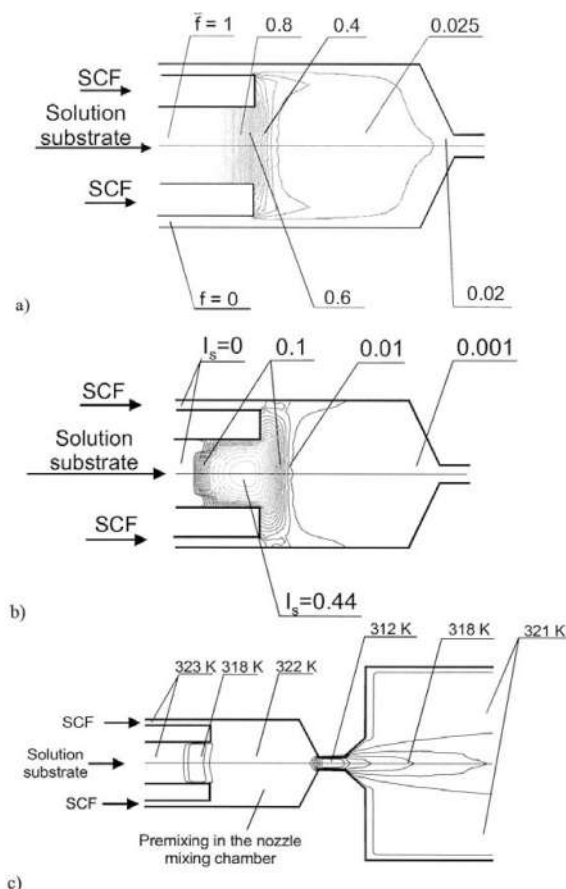
$$S_h = \bar{\rho}\tilde{u}_i\left(\frac{\partial Q_m}{\partial Y_{\alpha}}\tilde{Y}_{\alpha} + Q_m\right)\frac{\partial\tilde{Y}_{\alpha}}{\partial x_i}. \quad (18)$$

Типичные модели процесса струйного смешивания между этанолом и сверхкритическим углекислым газом показаны на рисунке 19. Распределение по  $\tilde{f}$  показывает, что происходит очень быстрое предварительное смешивание этанола со сверхкритическим диоксидом углерода уже в смесительной камере (рис. 19a). Однако смешивание на молекулярном уровне не является наилучшим, и наблюдаются колебания концентрации этанола (рис. 19b).

Интенсивность расслоения  $I_S$  равна единице, когда жидкие элементы просто смешаны в макромасштабе без смешивания на молекулярном уровне;  $I_S$  равен нулю, когда смешение на молекулярном уровне идеально подходит для заданной величины  $\tilde{f}$ . Квадратный корень флуктуации смешанной фракции представлен как  $\sqrt{I_S}$ . Очевидно, что смешение на молекулярном уровне следует за смешением в макромасштабе (т. е. турбулентной конвекции и турбулентной диффузии); смешивание в макромасштабе уменьшает крупномасштабную



неоднородность, производя в то же время неоднородность на молекулярном масштабе, которая, наконец, рассеивается в результате влияния эффектов молекулярной диффузии (микромиксинг). Наконец, на рисунке 19с показано распределение температуры в системе; влияние эффектов энтальпии смешения явно присутствует в камере сопла, и далее наиболее значительное снижение температуры возникает вследствие эффекта Джоуля — Томсона.



**Рис. 19**

Эффекты смешивания этанола и  $\text{CO}_2$  в форсунке при температуре на входе  $T_f = 323,1 \text{ K}$  и давлении в емкости для осаждения  $P = 20 \text{ МПа}$ ; распределение среднего значения смешанной фракции  $\tilde{f}$  (a), распределение смешанной фракции дисперсии концентрации (b) и распределение температур в системе (c) [147]

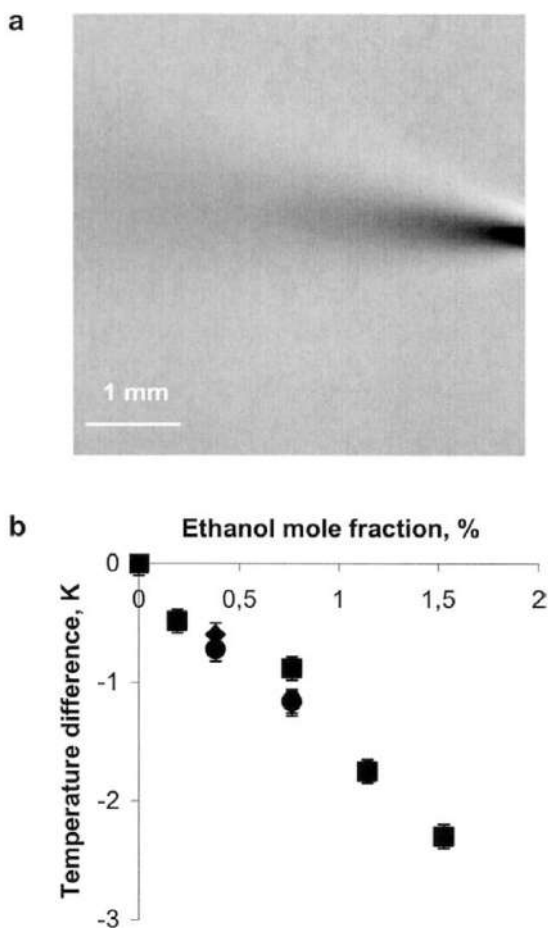
Эти предположения были подтверждены экспериментальными результатами, полученными с использованием интерферометрии с фазовым сдвигом. Эксперименты состояли в использовании различных видов сопла для смешивания этанола и  $\text{CO}_2$ . При высоких числах Рейнольдса (малые диаметры сопла)

распределение этанола внутри струи было показано однородным; таким образом, градиенты показателя преломления были полностью созданы температурной разницей между струей и жидкостью коллектора. Однако при относительно небольших значениях чисел Рейнольдса (рис. 20а), плохое перемешивание внутри сопла проявляется в больших флуктуациях концентрации в струе и приводит к неоднородности концентрации этанола в потоке. Эта крупномасштабная неоднородность является результатом недостаточной турбулентной диффузии в камере сопла. Падение температуры, вызванное энтальпией смешения является значительным (рис. 20b) и сравнимо с эффектом Джоуля — Томсона в этих условиях (см. рис. 19b).

**Рис. 20**

Эффекты смешивания этанола и  $\text{CO}_2$ , наблюдаемые с помощью фазового сдвига интерферометрии при  $T = 323,1 \text{ K}$  и  $P = 20 \text{ МПа}$ .

Усредненное по времени радиальное распределение концентрации этанола в форсунке с большим отверстием (0,75 мм), равной диаметру смесительной камеры на рисунке 7. Серый фон соответствует хорошо смешанной жидкости, а темные или светлые отклонения соответствуют обогащенным  $\text{CO}_2$  и обогащенным этанолом частям потока (а). Температурный сдвиг в струе вызван энтальпией эффекта смешивания и показан как функция мольной фракции этанола (b) [147]



Следует отметить, что энтальпия смешивания возрастает по мере уменьшения плотности  $\text{CO}_2$  и давления  $P_m$ . В этих условиях как энтальпия, так и влияние эффекта Джоуля — Томсона могут возрасти на порядок. Геометрия сопла и влияние чисел Рейнольдса имеют решающее значение для равномерного смешения, также нельзя пренебрегать изменениями температуры.

## ВОПРОСЫ

1. Как размер чисел Рейнольдса отражается на макроперемешивании и молекулярном перемешивании?
2. На что влияет эффект молекулярной диффузии (микромиксинг)?

### 5.3.3. ВЛИЯНИЕ ВСТРЕЧНОЙ ДИФфуЗИИ ВО ВРЕМЯ СМЕШИВАНИЯ

Было исследовано возможное влияние неравновесных эффектов «поперечной диффузии» на процесс перемешивания с помощью прямого численного моделирования (DNS) флуктуации массовой доли в стационарной изотропной турбулентности для двоичных смесей при сверхкритических условиях (H. Lou, R. S. Miller, 2001) [37]. Авторы показали, что через некоторое время первоначально идеально смешанные виды флуктуируют по температуре и давлению и индуцируют термодиффузионные потоки, представленные поперечно-диффузионными потоками  $J_i^P$  и  $J_i^P$ , вызванными градиентами температуры и давления. Основываясь на результатах DNS, мы предлагаем феноменологическую модель, которая предсказывает скорость увеличения концентрации дисперсии как

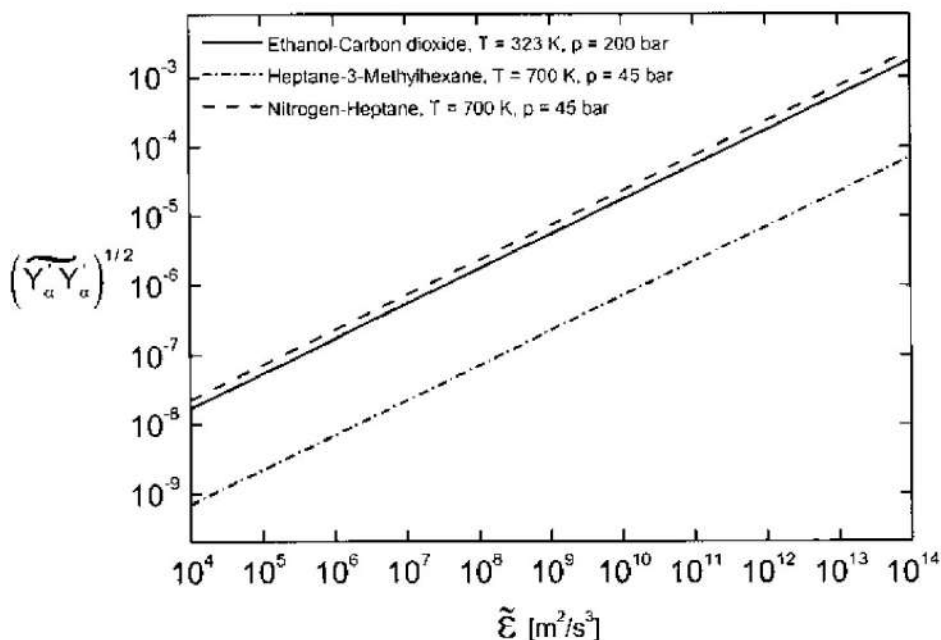
$$J_i^P \frac{\partial Y_\alpha}{\partial x_i} \approx C_k C^P \rho \frac{(\tilde{Y}'_\alpha \tilde{Y}'_\alpha)^{\frac{1}{2}}}{(D\alpha_d)^{\frac{1}{2}}} \frac{\tilde{\epsilon}^{5/6}}{l^{2/3}}, \quad (19)$$

где  $C_k$  — корреляционный коэффициент градиента массовой доли с градиентом давления [ $C_k \approx 0,26-0,51$ ];  $\alpha_d$  — коэффициент диффузии массы, связанный с коэффициентом летучести, который изменяет эффективную диффузию ( $D_{eff} = D_m \alpha_d$ ). Когда достигается статистический баланс между скоростью микроремешивания, подчиняющейся законам Фика и скоростью дисперсии, из уравнения (19) получим

$$(\tilde{Y}'_\alpha \tilde{Y}'_\alpha)^{\frac{1}{2}} = C_x C_k C^P \frac{\tilde{\epsilon}^{1/2}}{(D\alpha_d)^{\frac{1}{2}}} = C_x C_k \rho \frac{D_m^{1/2} \tilde{\epsilon}^{1/2}}{\alpha_d^{1/2}} \frac{\tilde{Y}_A \tilde{Y}_B}{R\tilde{T}} \left( \frac{M_A M_B}{M_m} \right) \left( \frac{\partial V / \partial X_B}{M_B} - \frac{\partial V / \partial X_A}{M_A} \right). \quad (20)$$

Результаты расчетов (рис. 21) показывают, что дисперсия концентрации увеличивается с увеличением как входной мощности для смешанной  $\tilde{\epsilon}$ , так и соотношения молекулярных масс двух видов.

Эффекты кросс-диффузии могут влиять на процесс образования частиц только в случае быстрого смешения (например, форсуночных смесителей, характеризующихся чрезвычайно большими значениями скорости диссипации энергии). Следует отметить, что образование ядер (центров кристаллизации) очень чувствительно к перенасыщению, и, следовательно, эти отклонения в концентрации могут быть важными факторами механизма образования центров кристаллизации в сверхкритических растворах.



**Рис. 21**

Влияние приложенной мощности на флуктуации концентрации в сверхкритических жидкостях в устойчивом состоянии [147]

## ВОПРОСЫ

1. Как влияют неравновесные эффекты «поперечной диффузии» на процесс перемешивания?
2. При каких условиях могут проявляться эффекты кросс-диффузии?

## 5.4. ДИСПЕРСИЯ КАПЛЕОБРАЗОВАНИЯ И МАССОПЕРЕДАЧА

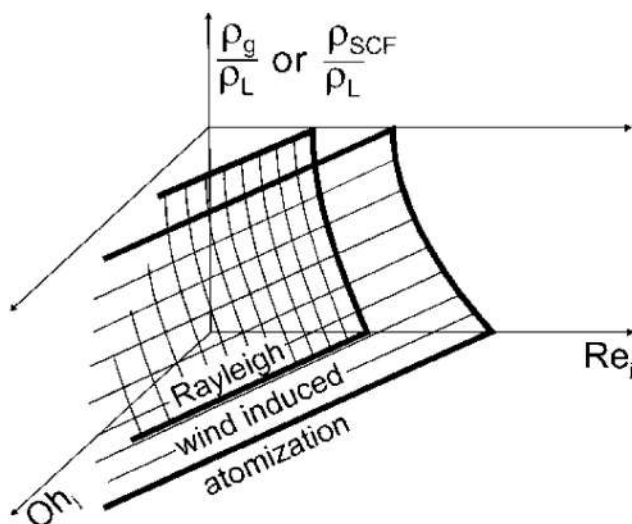
### 5.4.1. ДИСПЕРСИЯ С ПОМОЩЬЮ ОДНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ФОРСУНКИ

Рассмотрим теперь двухфазную систему при  $P < P_m$ , где одна фаза находится в сверхкритическом состоянии, а вторая — в жидком состоянии. Существует поверхностное натяжение между обеими фазами, и поведение жидкости определяется турбулентностью и сложным явлением обмена импульсами между фазами. В практике на поведение жидкостей сильно влияет массо- и теплообмен между фазами.

Начнем с явления разрушения струи, наблюдаемом при постоянном введении жидкости через одно сопло в «неподвижный газ» или в сверхкритический флюид. Можно распознать несколько режимов диспергирования и отнести эти режимы к анализу устойчивости течения жидкости. Такой анализ роста небольших начальных возмущений поверхности жидкости, включающий эффекты инерции жидкости, межфазного натяжения, сил вязкости и аэродинамических сил, подробно представлен Рейцем и Бракко (R. D. Reitz, F. V. Bracco, 1986) [38]. С числами Рейнольдса и Онезорге, определяемыми как

$$Re_j = \rho_L u_0 d_0 / \mu_L \quad \text{и} \quad Oh_j = \mu_L / \sqrt{\rho_L d_0 \sigma}$$

соответственно, наиболее важные режимы диспергирования представлены на рисунке 22.



**Рис. 22**

Схематическое изображение границ жидкой струи: влияние соотношений плотности [147].

Хорошо видно, что ветровое разрушение и распыление достигаются при более низкой скорости впрыска при сжатии газа. Рэлей (W. S. Rayleigh) [39] проанализировал конкретный случай, когда  $Oh_j = 0$  и  $We_2 = \rho_g u_0^2 d_0 / \sigma$  (т. е. лишенная вязкости струя жидкости при низкой скорости и низкой плотности газа). Он рассчитал размер капли по длине волны осесимметричных поверхностных возмущений с максимальным уровнем роста. Капли в режиме Рэлея (также называемом варикозным режимом) имеют диаметры больше диаметра струи и увеличиваются в несколько диаметров сопла недалеко от точки впрыска; длина разрушения струи увеличивается пропорционально скорости струи. Когда скорость струи и/или плотность газа увеличиваются, струя начинает оказывать влияние на окружающий газ. Когда эти взаимодействия имеют чисто инерци-

онный характер, как полагает Вебер (C. Weber, 1931) [40], интенсивность дестабилизации может быть выражена числом Вебера  $We_2$ . Действительно, при конечных значениях чисел Рейнольдса наблюдаются эффекты вязкости газа, поскольку флуктуирующее давление этого газа, связанное с ординатой волны, уменьшается. Максимальный темп роста волны в этом режиме, называемый первым ветровым режимом, происходит при малых волновых числах, поэтому размеры капель все еще имеют порядок, сопоставимый с диаметром струи.

Когда  $We_2$  еще больше увеличивается, силы натяжения начинают работать на стабилизацию струи. Максимальный рост волн происходит при более коротких длинах волн, которые индуцируются относительным движением между струей и окружающим газом. Начало второго ветрового режима разрушения наблюдается при достижении  $We_2 \sim 12-13$ . Капли намного меньшие, чем диаметр струи, наблюдаются на коротких длинах волн. Распад начинается на небольшой дистанции вниз по течению от сопла; Тейлор [41] оценил неповрежденную длину сердцевин  $L_2$  как

$$L_2 = C_1 a \left( \frac{\rho_L}{\rho_g} \right)^{1/2} \frac{1}{f(\Gamma)}, \quad (21)$$

где  $C_1$  — константа порядка единицы и

$$\Gamma = (\rho_L / \rho_g)(\sigma^2 / \mu_L^2 u^2) = (\rho_L / \rho_g)(Re_j / We_1)^2,$$

$We_1 = \rho_L u_0^2 d_0 / \sigma$ ,  $f(\Gamma)$  — возрастающая функция от  $\Gamma$ , которая при высоких значениях  $\Gamma$  достигает константной величины  $f(\Gamma) = \frac{\sqrt{3}}{6}$  при  $\Gamma \approx 10^3$ . Неповрежденную поверхностную длину  $L_1$  можно рассчитать согласно формуле

$$L_1 = \frac{C_2 L_2}{We_2}, \quad (22)$$

что означает, что  $L_1$  уменьшается с увеличением  $We_2$ . В уравнении (22),  $C_2$  — постоянная, мало зависящая от размера капли. Наконец, в режиме распыления распад начинается с выхода сопла, и струя спрея принимает форму конуса. Размеры капель намного меньше диаметра струи. Было обнаружено, что угол распыления увеличивается с плотностью газа и вязкостью жидкости. В этом режиме геометрия сопла сильно влияет на процесс распыления. Это очень сложное явление, включающее в себя наложение многих элементарных механизмов.

Предполагая, что свертонкое измельчение вызвано ростом аэродинамической поверхностной волны, Ranz [42] предсказал угол распространения  $\mathcal{Q}$  распыляющей струи как соотношение радиальной составляющей скорости неустойчивых поверхностных волн к аксиальной инжекционной скорости:

$$\tan\left(\frac{\Theta}{2}\right) = \frac{4\pi}{A} \left( \frac{\rho_g}{\rho_L} \right)^{\frac{1}{2}} f, \quad (23)$$

где  $A$  — постоянная, в пропорциональной зависимости от размера сопла.

Начало сверхтонкого измельчения наблюдается при условиях

$$\left(\frac{\rho_L}{\rho_p}\right)^{1/2} < K \quad \text{для } \Gamma > 1; \quad (24)$$

$$\left(\frac{\rho_L We_1}{\rho_p Re_j}\right)^{1/2} < K \quad \text{для } \Gamma < 1,$$

где  $K$  — константа, зависящая от геометрии. Ветровые области разрыва могут быть идентифицированы с так называемой синусовой областью.

Другой критерий для перехода от синусового режима к режиму распыления можно представить как

$$We_1 = 10^6 Re_j^{-0,45}. \quad (25)$$

Большинство представленных результатов указывают на сильное влияние плотности газообразной фазы на дестабилизацию струи. Плотность газообразной фазы также должна значительно влиять на образование капель в сверхкритическом флюиде. Рассмотрим теперь поведение капель. Размер капель рассчитывается напрямую из исходной теории Рэлея [39], поэтому для струй с малой вязкостью мы пишем

$$d = 1,89d_j, \quad (26)$$

где  $d_j$  — диаметр струи.

Для увеличения вязкости текучей среды (для  $Oh_j > 0,1$ ) теория Вебера [40] предполагает

$$d = 1,89d_j \left(1 + \frac{3\mu_L}{\sqrt{\sigma\rho_L d_j}}\right)^{1/2}. \quad (27)$$

В режиме рэлеевского или варикозного разрушения струи уравнение Даффи и Маршалла (J. A. Duffie, W. R. Marshall, 1953) [43], которое основано на экспериментальных данных, предполагает

$$d_G = 36d_0^{0,56} Re_j^{-0,10}, \quad (28)$$

где  $d_G$  — геометрический средний диаметр капель. Распределения частиц по размерам часто выражаются как нормальные, логарифмически нормальные, распределения Росин — Раммлера и распределения Накаяна — Танасава (Narasimha-murty et al., 1986) [44].

## ВОПРОСЫ

1. При каких условиях достигается ветровое разрушение и распыление?
2. Поясните условия режима Рэлея (варикозного режима)?
3. Через какие компоненты можно выразить угол распространения распыляющей струи?

## 5.4.2. РАСПАД И ДИСПЕРГИРОВАНИЕ С ПОМОЩЬЮ ДВУХЖИДКОСТНОЙ ФОРСУНКИ

Уравнение баланса сил или сохранения импульса описывает перемещение в пространстве малых частиц или капель в нестационарном, неоднородном потоке. Ускорение массы частицы, увеличиваемое добавленной массой, происходит вследствие воздействия нескольких сил на частицу. Предполагая, что не имеется нелинейных взаимодействий между различными силами, воздействующими на частицу, можно написать следующее выражение (E. Loth, 2000) [45]:

$$\rho_p V_p \left( 1 + \frac{C_M}{\Psi} \right) \frac{dV_d}{dt} = F_d + F_g + F_L + F_S + F_H + F_W, \quad (29)$$

где  $C_M$  — добавленный коэффициент массы;  $C$  — отношение частицы (или капли) к плотности диспергирующей фазы;  $V_p$  — объем частицы.

В уравнении (29),  $V_d$  представляет собой скорость диспергирующей фазы,  $F_D$  — силу сопротивления,  $F_g$  — силу тяжести,  $F_L$  — подъемную силу,  $F_S$  — влияние жидкостных градиентов напряжений,  $F_H$  — хронологическое число Бассета,  $F_W$  — взаимодействия с преградой. В данной работе мы ограничиваем себя влиянием сил сопротивления  $F_D$ . В случае сферических твердых частиц диаметром  $d$   $F_D$  может быть выражена как

$$F_D = -\frac{1}{8} \pi d^2 \rho_c C_D |V_d - V_c| (V_d - V_c), \quad (30)$$

где  $V_d - V_c$  — локальная разность скоростей между фазой частицы и диспергированной фазой. Для течения очень вязкой жидкости (режим Стокса) коэффициент сопротивления  $C_D$  можно выразить как

$$C_D = \frac{24}{Re_p}, \quad Re_p \ll 1, \quad (31)$$

где

$$Re_p = \frac{|V_d - V_c| d \rho_c}{\mu_c}, \quad (32)$$

$d$  — диаметр частицы.

При более высоком числе Рейнольдса действие инерционных сил становится заметным и может быть включено с использованием поправочного коэффициента  $f_{Re}$ , где  $C_D = (24/Re_p) f_{Re}$ , где  $f_{Re}$  может быть выражено формулой

$$f_{Re} = A + B Re_p^m + C Re_p^n, \quad (33)$$

с коэффициентами, равными

$$\begin{aligned} A &= 1, B = 3/16, m = 1, C = 0 \text{ для } Re_p < 1; \\ A &= 1, B = 0,1935, m = 0,6305, C = 0 \text{ для } 1 < Re_p < 285; \\ A &= 1, B = 0,015, m = 1, C = 0,2283, n = 0,427 \text{ для } 285 < Re_p < 2000; \\ A &= 0, B = 0,44/24, m = 1, C = 0 \text{ для } 2000 < Re_p < 3,5 \cdot 10^5. \end{aligned}$$

Аналогичная система уравнений для сверхтонкого распыления была предложена Liu et al. [46]. Корреляции, полученные для сферических частиц,



являются основой для выведения выражений, описывающих сопротивление не-сферических частиц.

Рассмотрим ситуацию, когда частица является жидкостью. Можно обсудить два режима:  $\Psi = \rho_L / \rho_C \gg 1$  (капли жидкости в газе) и  $\Psi$  примерно равна единице (несмешивающиеся капли жидкости в жидкости или сверхкритическом флюиде) или меньше 1 (пузырьки газа в жидкости,  $\Psi = \rho_L / \rho_C \ll 1$ ). В случае  $\Psi \gg 1$  внутренняя циркуляция сильно не влияет на капли, и часто используется выражение коэффициента сопротивления для твердого тела, если капелька не подвергалась значительной деформации.

Капельки в случае  $\Psi \gg 1$  можно считать деформированными, если  $B < 0,14$ , где  $B$  — число Бонда или число Этвёша, и  $B = (|\rho_p - \rho_c| g d^2) / \sigma$ .

В невозмущенном потоке, где скорость близка к ее предельному значению, форма капель определяется числом Бонда и числом Мортонa, где  $M_0 = (g \mu_c^4 |\rho_p - \rho_c|) / \rho_d^2 \sigma^3$  и, следовательно, есть коэффициент сопротивления.

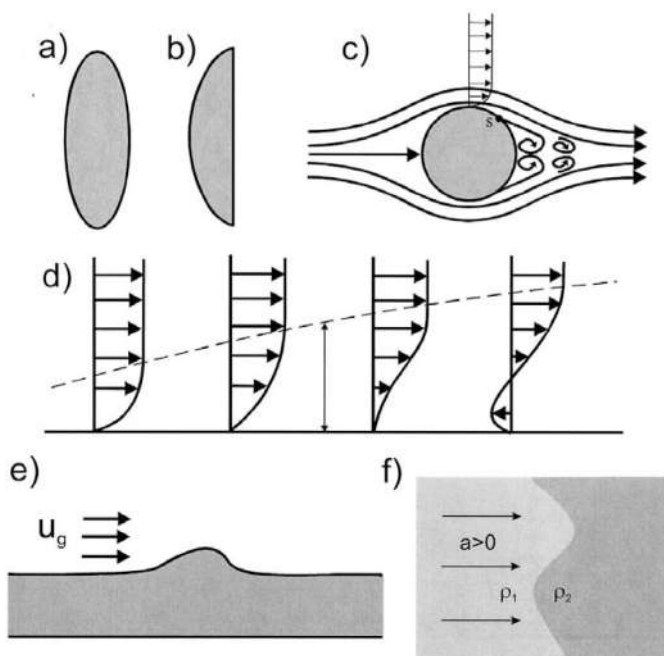
Деформация значительна, когда  $M_0 < 1,2 \cdot 10^{-7} B^{8,15}$  для  $B < 5$  или  $M_0 < 0,2 \cdot 10^{-7} B^{2,83}$  для  $B \geq 5$ , с эллипсоидальной формой для  $B < 40$  и сферическим куполом для  $B > 40$ .

Результат взаимодействия капель друг с другом — в диспергировании капель и связанном с этим создании новой площади поверхности. В дальнейшем мы рассмотрим два вида диспергирования капель: первый возникает из-за разницы скоростей между капельной и непрерывной фазовой скоростью, а второй — в результате колебаний скорости и давления.

Рисунок 23 иллюстрирует основной феномен, связанный с капельным диспергированием. Разрушение капель становится возможным при некоторой критической деформации (рис. 23а, б), так как деформация обусловлена разностью давлений, генерируемых потоком. Сверхтонкое распыление с поверхности больших капель начинается с пограничного слоя.

Как объяснил Шлихтинг (H. Schlichting, 1979) [47], некоторое замедление жидкости в пограничном слое (рис. 23с, д) переносится на основной поток, когда происходит явление «разделения». Это случается, когда область с отрицательным градиентом давления существует вдоль стенки, а запаздывающие элементы жидкости не обладают достаточной кинетической энергией для проникновения в область повышенного давления, вследствие чего пограничный слой отклоняется от поверхности.

Тогда жидкость пограничного слоя может принимать небольшие капли из жидкости поверхностного слоя и переносить их в основной поток. Когда поток газа параллелен поверхности жидкости, короткие волны формируются на поверхности капли и жидкость удаляется с вершины волны (рис. 23е). Вероятно, наиболее важный механизм диспергирования капли связан с неустойчивостью Рэлея — Тейлора (рис. 23ф). Тейлор рассматривал неустойчивость поверхности между двумя жидкостями в случае двух жидкостей, которые ускоряются в направлении перпендикулярно этой границе раздела (G. I. Taylor, 1950) [48]. Он показал, что эта поверхность неустойчива, когда жидкость с более низкой плотностью ускоряет жидкость с более высокой плотностью.



**Рис. 23**

Явления, связанные с диспергированием капли: деформация (расщепление) (a), деформация в линзовидную форму (b), развитие и разделение пограничного слоя (c), распределение скоростей вблизи точки разделения пограничного слоя (d), неустойчивость Кельвина — Гельмгольца (e), неустойчивость Рэлея — Тейлора (f),  $\rho_1 < \rho_2$  [147].

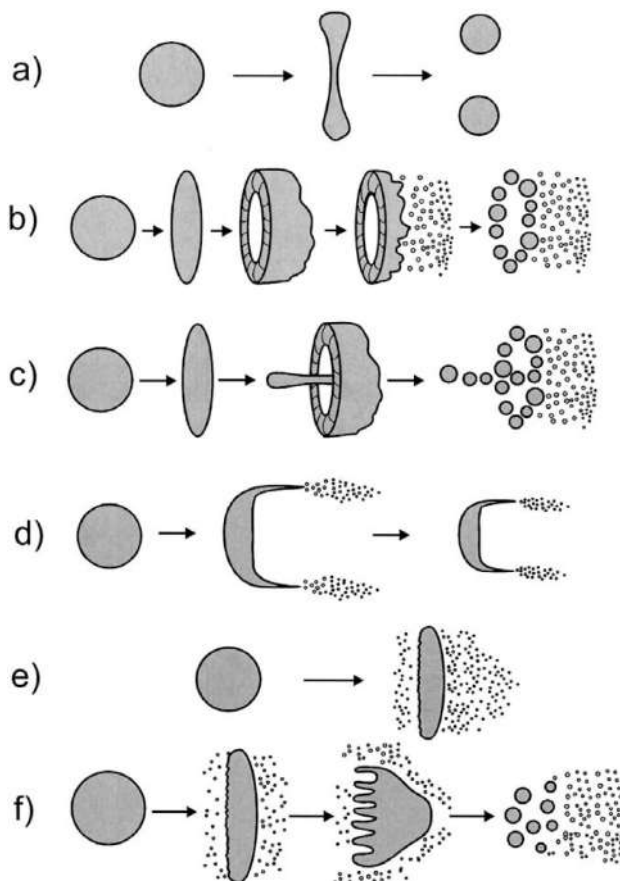
Рисунок 24, который показывает, как вышеупомянутые механизмы способствуют снижению диспергирования капель, представляет собой компиляцию результатов и идей, представленных многими авторами (M. Pilch et al., 1987) [49]. Катастрофический или взрывной разрыв, представленный на рисунке 24, связан только с рассмотренной выше неустойчивостью Рэлея — Тейлора.

Силы, необходимые для диспергирования капли, появляются при уменьшении разницы скоростей между каплей и окружающей жидкостью. Тейлор вывел критерий диспергирования капель:

$$\frac{\rho_L (\Delta V)^2 d}{4\sigma} > C_1 \quad (34)$$

со значением  $C_1 \approx 2,7$ , которое дает критическое число Вебера, уровень диспергирования капель примерно равен 12. Джозеф предложил критерий для диаметра капель, который является устойчивым относительно неустойчивости Рэлея — Тейлора, где  $a$  — ускорение (Joseph et al., 1999) [50]:

$$d < 2\pi \sqrt{\frac{\sigma}{\rho_L a}}. \quad (35)$$



**Рис. 24**

Механизмы распада и распыления капель: вибрационная разбивка (a), «сумка», «шляпа» или «парашют» (b), «сумка и тычинка», «парашют» и «тычинки», или «зонтик» (c), удаление тонкого поверхностного слоя жидкости (d), зачистка гребня волны (e), «катастрофический» или «взрывной» распад (f) [147].

Когда средняя скорость капель почти равна средней скорости потока и поток является турбулентным, все же может быть некоторое диспергирование капель, возникающее в результате действия турбулентных завихрений.

Явление разрушения капли турбулентными напряжениями было предметом многих исследований, основанных на фундаментальных работах Колмогорова [51] и Хинзе [52]. Микроскопическая турбулентность была представлена в этих исследованиях с использованием теории Колмогорова. Согласно этой теории уравнение для максимально стабильного размера капли для капель с низкой вязкостью выглядит как

$$d_{\max} = \frac{C_x \sigma^{0,6}}{\epsilon^{0,4} \rho_c^{0,6}}, \quad (36)$$

где  $\epsilon$  — скорость диссипации кинетической энергии на единицу массы;  $C_x$  — первый порядок.

Уравнение (36) справедливо для капель, диаметр которых находится в пределах инерционного поддиапазона турбулентности,  $\eta < d < L$ , где  $L$  — интегральная шкала турбулентности и  $\eta = \nu_c^{3/4} / \epsilon^{1/4}$  — колмогоровский внутренний масштаб турбулентности.

Метод, предложенный Колмогоровым [53] и Хинзе [52], был дополнительно разработан Baldyga и Bourne (J. Baldyga, J. R. Bourne, 1999) [54] к случаю более реалистичной периодической турбулентности, которая была описана с помощью мультифрактального формального математического представления. В этой модели размер капель в инерционном поддиапазоне также зависит от интегральной шкалы турбулентности, связанной с внутренним масштабом турбулентности системы. Новая формулировка предлагает

$$d_{\max} = C_X^{1,54} L \left( \frac{\sigma}{\rho_c \epsilon^{2/3} L^{5/3}} \right)^{0,93} \quad (37)$$

для максимального стабильного размера капли и

$$g(d) = C_g \sqrt{\ln \left( \frac{L}{d} \right)} \epsilon^{1/3} d^{-2/3} \int_{0,12}^{\alpha_x} \left( \frac{d}{L} \right)^{[\alpha+2-3f(\alpha)]/3} \quad (38)$$

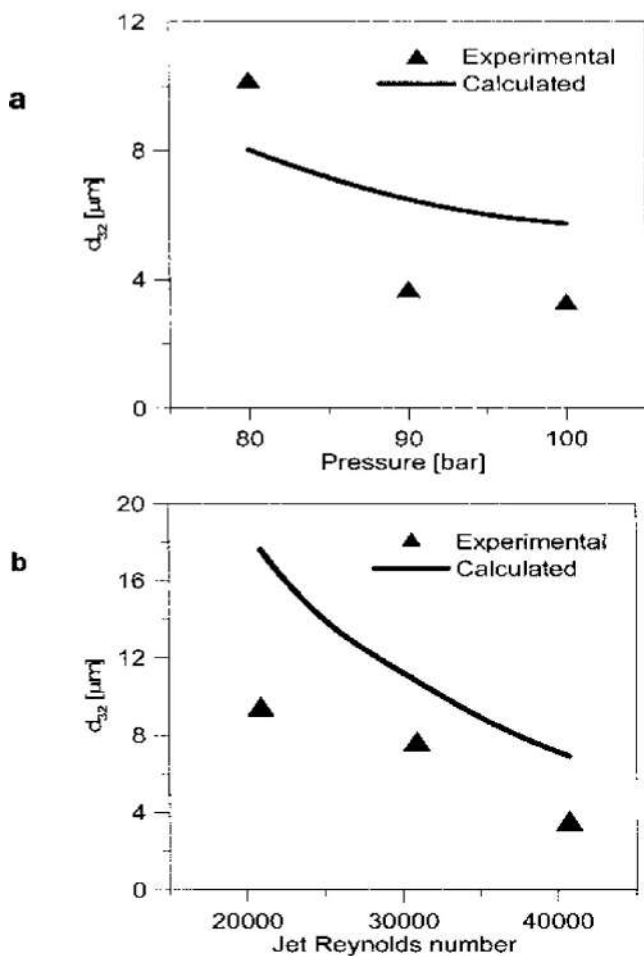
для частоты разрушения капли.

В уравнении (38)  $C_g$  размерность порядка от  $10^{-2}$  до  $10^{-3}$  — это коэффициент пропорциональности;  $\alpha$  — показатель масштабирования;  $f(\alpha)$  — мультифрактальный график и

$$\alpha_X = \frac{\frac{5}{2} \log \frac{L \epsilon^{0,4} \rho_c^{0,6}}{C_X \sigma^{0,6}}}{\log \frac{L}{d}} - 1,5. \quad (39)$$

Развитие этой теории капель большой вязкости и капель меньших, чем колмогоровский микромасштаб, можно найти в литературе.

Уравнение (35) для разрыва капли, вызванное ускорением, и уравнения (37)–(39) для моделирования распада капли турбулентными напряжениями, можно использовать для объяснения поведения капли для двухжидкостной форсунки, показанной на рисунке 19. Прогнозируемые размеры капель этанола, диспергированные в сверхкритической двуокиси углерода, сравниваются с измеренными значениями на рисунке 25. Можно видеть, что модель хорошо предсказывает экспериментально наблюдаемые показатели, хотя совпадение и неполное. Увеличение размера капель при уменьшении давления объясняется уменьшением поверхностного натяжения на границе фаз при более высоких значениях давления (рис. 25a), и увеличение числа Рейнольдса струи уменьшает размер капли, приводя к увеличению ускорения и соответственно скорости энергии диссипации (рис. 25b).



**Рис. 25**

Разрушение капель в процессе SEDS:  
 влияние давления (a) и влияние чисел Рейнольдса в струе (b) [147].

### 5.4.3. ТЕПЛО- И МАССОПЕРЕНОС МЕЖДУ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ФАЗОЙ И КАПЕЛЬКАМИ

Нас интересует дисперсия небольшого количества жидкого раствора в сверхкритическом флюиде при  $P < P_m$ , т. е. когда система далека от термодинамического равновесия с результирующим массо- и теплообменом между каплями и сверхкритической окружающей средой. Простейшей моделью, которая может быть использована в этом случае, является классическая модель испарения капли, которая предсказывает линейное уменьшение рассчитанного диаметра капли во времени и часто упоминается как «закон  $d^2$ »:

$$d(t)^2 = d_{d0}^2 - K_V t \quad (40)$$

и

$$K_V = -\frac{d[d(t)^2]}{dt} = \frac{d_{d0}^2}{t_{vap}} = \frac{8\rho_{gs}D_{gs}}{\rho_L} \ln\left(1 - \frac{C_P(T_\infty - T_{in})}{L}\right), \quad (41)$$

где  $d_{d0}$  — начальный диаметр капли;  $K_V$  — константа скорости испарения;  $t_{vap}$  — время испарения капель;  $D_{gs}$  и  $\rho_{gs}$  — коэффициент диффузии массы в газовой фазе на поверхности капли и плотность газа на поверхности капли соответственно;  $C_P$  — среднее значение удельной теплоемкости при постоянном давлении;  $L$  — удельная скрытая теплота парообразования.

Уравнения (40) и (41) получают, предполагая изобарический, контролируемый диффузионный процесс, сферическую симметрию (так, например, гидростатические эффекты не включены), и процесс в квазистационарном состоянии, что означает, что накоплением в уравнениях сохранения массы, импульса и энергии пренебрегают как малой величиной по сравнению с величинами потока. Также пренебрегают эффектами относительной скорости между каплей и жидкостью и эффектами деформации жидкости, хотя они имеют важное значение в турбулентных потоках, когда капли достаточно велики по размеру.

Из уравнения (41) следует, что перенос массы из капли ограничен только теплотой парообразования и определяется разностью температур ( $T_\infty - T_{in}$ ) окружающей жидкости и капельки. В изотермических условиях это означает, что массоперенос из капли бесконечно медленный или теплопередача бесконечно быстрая. Модель была успешно использована для интерпретации экспериментальных данных для испарения капель, а также для интерпретации экспериментальных данных по сгоранию капельно подаваемого топлива (при этом константа испарения  $K_V$  заменяется постоянной сгорания  $K_C$ ). Успех такой модели можно объяснить тем, что после короткого начального переходного периода падение достигает почти стабильной температуры и во многих случаях температура капель равномерна.

Однако в среде жидкость — сверхкритический флюид «закон  $d^2$ » (линейное уменьшение рассчитанного диаметра капли) может быть неприменим. Основные различия между сверхкритическим и подкритическим характером движения жидкости связаны с массопереносом. При сверхкритических условиях улучшаются эффективные расчетные масштабы длины для тепло- и массопереноса соответственно, по сравнению с таковыми в докритических условиях. Это означает, что относительная скорость массопереноса по отношению к тепловой диффузии уменьшается в сверхкритических условиях, тем самым увеличивая эффективность числа Льюиса.

Подход, рассмотренный Верлингом и Дебенедетти [55], предполагает массоперенос между капелькой жидкости и сверхкритической фазой на основе чисто диффузионных механизмов в изотермических условиях. Авторы решили зависящие от времени уравнения сохранения массы и импульса, предполагая

сферическую симметричность, равновесие на границе раздела пар — жидкость и неподвижные капли, причем единственным конвекционным движением является движение, индуцированное диффузионным массопереносом.

Для оценки коэффициентов летучести и композиционной зависимости плотностей газа и жидкости использовалось уравнение состояния Пенг — Робинсона. Применение коэффициентов фугитивности (летучести) позволило моделировать уменьшение до нуля коэффициента диффузии в критической точке. Вычисления проводились для системы «диоксид углерода — толуол».

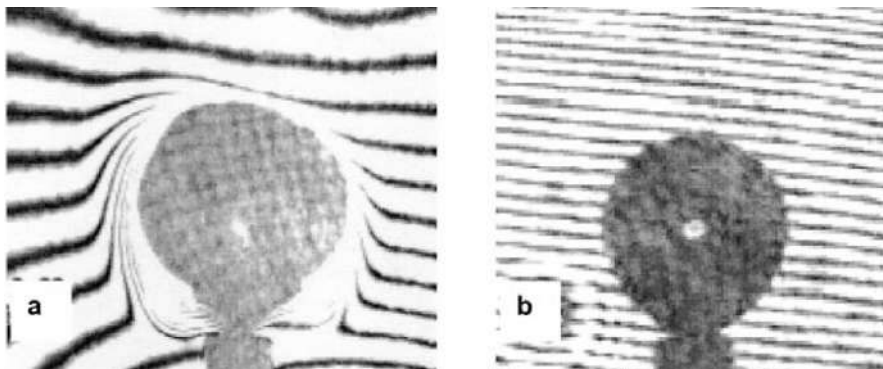
Результаты показали, что начальный межфазовый (пограничный) поток всегда уходит в каплю, что приводит к первоначальному увеличению радиуса капли. Прогнозируемое набухание капель было заметным, до четырехкратного увеличения радиуса капли. После первоначальной быстрой диффузии  $\text{CO}_2$  в капельки, градиент концентрации  $\text{CO}_2$  уменьшался, а поскольку результирующая диффузия выходит наружу, капли начинают уменьшаться в размерах. Наконец, массоперенос 100% насыщенных капель завершен, и капли быстро сжимаются. Этот этап выглядит, как «испарение»; но мы используем этот термин здесь, потому что существуют значительные различия между испарением в газообразную среду и в фазу сверхкритического флюида. В работе [55] было указано, что поведение набухания/испарения резко меняется из одной системы в другую вследствие поведения нескольких конкурирующих факторов. Кроме того, некоторые фундаментальные ограничения этой модели связаны с динамикой поведения жидкостей, и должен быть учтен массообмен на поверхности.

Рассмотрим экспериментальные результаты, полученные для системы «этанол —  $\text{CO}_2$ ». На рисунке 26а показаны пузырьки  $\text{CO}_2$ , впрыскиваемые в чистый этанол. По сравнению с капельками этанола, вводимыми в чистый  $\text{CO}_2$  при тех же условиях (рис. 16а), массоперенос значительно интенсивнее, а градиент концентрации больше, чем для относительно медленного испарения этаноловых капель в сверхкритической фазе. Фактически этот процесс настолько интенсивный, что деформация и поверхностная неустойчивость пузырьков хорошо видна на рисунке 26а по сравнению со стабильным равновесием пузырьков (рис. 26б) или стабильной формой капель во время испарения (рис. 16а). Таким образом, начальный поток  $\text{CO}_2$  в этаноле при  $P < P_m$  намного быстрее, чем обратный процесс испарения этанола, что можно объяснить более высокой равновесной концентрацией  $\text{CO}_2$  в обогащенной этанолом фазе, а также более высоким коэффициентом внутреннего массопереноса по сравнению с газообразной фазой.

Очевидно, что динамика жидкости играет очень важную роль как для внутреннего, так и для внешнего массопереноса, о чем свидетельствует очень сильная гравитационная конвекция (концентрационные выбросы), хорошо видны на рисунках 16 и 26а.

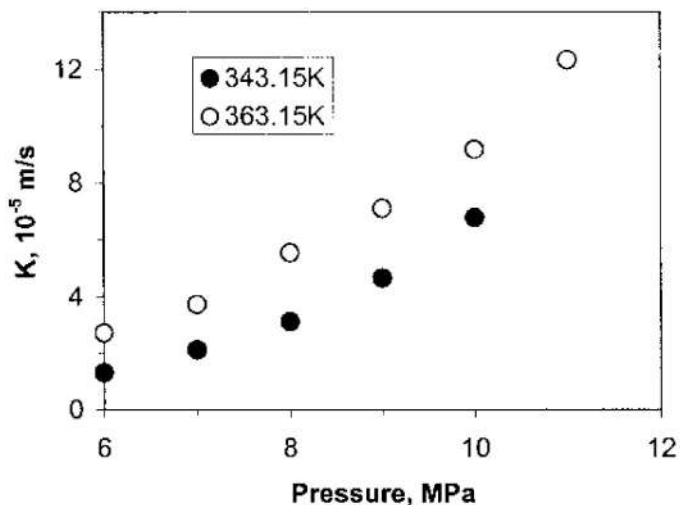
Результаты экспериментальных исследований стационарного массообмена между изолированной капелькой газообразного этанола при обычных гравитационных условиях и сверхкритический углекислый газ в состоянии покоя показаны на рисунке 27. Капли находились на питающей капиллярной трубке (как показано на рисунке 16), и условия стационарного режима были достигнуты

следующим образом: скорость подачи этанола была равна скорости переноса массы этанола в сверхкритический углекислый газ. Это динамическое равновесие контролировалось с помощью интерферометрии. Результаты показывают, что преобладает массообмен путем переноса этанола в диффузионный пограничный слой толщиной  $\sigma_c$ .



**Рис. 26**

Изображения, полученные с помощью лазерной интерферометрии, показывающие поведение пузырьков  $\text{CO}_2$ , инжестированных в этанол, для чистого растворителя (a) и растворителя, насыщенного  $\text{CO}_2$  (b);  $T = 363,15 \text{ K}$ ,  $P = 8 \text{ МПа}$ , диаметр пузырьков примерно равен 1,6 мм. Интерферометрические полосы показывают интенсивный перенос массы в сольвентной фазе [147]



**Рис. 27**

Полные коэффициенты массопереноса, полученные экспериментально для капель этанола, суспендированных в чистом  $\text{CO}_2$ , как функция от давления при двух разных температурах. Диаметр капли составляет около 1,6 мм [147]



Первая стадия «расширения» этанола была завершена еще до того, как капля вышла из капилляра. Следует отметить, что начальный процесс, в котором капельки набухают, можно интерпретировать как процесс нагрева, когда температура капель быстро повышается. Однако не была обнаружена разница температур между капелькой и окружающим  $\text{CO}_2$ , что указывает на почти изотермические условия для второй, испарительной стадии массообмена, в соответствии с предсказанными большими числами Льюиса в сверхкритическом  $\text{CO}_2$ . Общий коэффициент массопереноса  $K$ , показанный на рисунке 27, увеличивается с повышением температуры и давления.

Этот коэффициент может быть выражен сопротивлением массопереносу, содержащим коэффициент межфазного массопереноса  $K_i$ , коэффициент массопереноса внутри капли жидкости,  $K_L$ , и коэффициент диффузионного массопереноса  $K_D$  в пограничном слое в фазе парообразования:

$$\frac{1}{K} = \left( \frac{1}{k_L} + \frac{1}{k_i} + \frac{1}{k_D M} \right), \quad (42)$$

где  $M$  — константа поверхностного распределения, определяемая как

$$M = (M_L / M_g)(x_{gi} / x_{Li})(\rho_g / \rho_L),$$

где  $x_{gi}$  и  $x_{Li}$  — равновесные мольные доли этанола при соответствующих газовой и жидкостной стороне границ раздела;  $\rho_g$  и  $\rho_L$  — плотности газовой и жидкой фазы соответственно.

Это уравнение получается из учета массовых потоков для каждой стадии массопереноса. Для условий на рисунке 27 собственное значение  $M$  составляет от 0,01 до 0,05.

Внешний коэффициент массопереноса  $k_D$  может быть определен с помощью критерия Шервуда  $Sh$ , используя следующее уравнение:

$$Sh = \frac{k_D d}{D_V} = \frac{d}{\delta_c}, \quad (43)$$

что дает соотношение между диаметром капли и собственной толщиной диффузионного слоя. Когда капли очень малы, диаметром менее, чем колмогоровский микромасштаб,  $\lambda_K = (v^3 / \epsilon)^{1/4}$ , они суспендированы в турбулентном потоке жидкости, и, полагая, что они ведут себя как небольшие жесткие сферы, можно вычислить коэффициент внешнего массопереноса с помощью формулы, разработанной Батчелором [68]:

$$Sh = 2 + 0,69 \left( \frac{d^2 \epsilon^{1/2}}{D_V v^{1/2}} \right)^{1/3}. \quad (44)$$

Термин  $(d^2 \epsilon^{1/2}) / (D_V v^{1/2}) = d \Delta u / D_V$ , где  $\Delta u = (\epsilon / v)^{1/2} d$  представляет собой число Пекле для микроскопических капельно-турбулентных взаимодействий. В случае более крупных капель наличествует значительная разность скоростей между каплями и диспергирующей фазой; таким образом решение задачи,

представленное в разделе 5.4.2, используя относительную скорость числа Рейнольдса, уравнение (32), приводит к следующему соотношению:

$$\text{Sh} = 2 + \frac{0,55\text{Re}_p\text{Sc}}{(1,232 + \text{Re}_p\text{Sc}^{4/3})^{1/2}}. \quad (45)$$

Можно также вычислить внутренний коэффициент массопереноса жидкой фазы  $k_L$  из классических соотношений. В случае полностью неподвижной сферической капли, аналитическое решение кратчайшим путем (т. е. для числа Фурье  $F_0 = D_L t / R^2 < 0,0293$ ) представляет

$$\text{Sh} = \frac{k_L d}{D_L} = \sqrt{\frac{4}{\pi}} F_0^{-0,5}. \quad (46)$$

Более длинное решение не зависит от времени и представляет

$$\text{Sh} = \frac{k_L d}{D_L} = \frac{2}{3} \pi^2. \quad (47)$$

Коэффициент массопереноса дисперсной фазы жидкой капли с внутренней циркуляцией [69] имеет более высокие значения, чем в случае неподвижной капельки. Например, решение уравнения (47) принимает форму

$$\text{Sh} = \frac{k_L d}{D_L} = 17,7. \quad (48)$$

Наконец, имеется значение межфазного коэффициента массопереноса  $k_i$ . Sun и Shekunov [70], основываясь на интерферометрических измерениях поверхностной концентрации неравновесной капли, предполагают, что для некоторых растворителей существует значительное поверхностное сопротивление массопереносу. Экспериментальных данных по поверхностному сопротивлению массопереносу довольно мало. Обычно в химической технологии, как правило, предполагается, что жидкая фаза находится в равновесии на границе раздела, поэтому сопротивлением на границе фаз можно пренебречь. Модель Werling и Debenedetti [55] и большинство других теоретических работ с диффузией сверхкритических флюидов также не учитывают межфазное сопротивление.

Существуют, однако, признаки того, что межфазное сопротивление может быть, как минимум, важно как диффузионное сопротивление в плотных жидкостях или сверхкритических жидкостях. Классическая интерпретация межфазного сопротивления между жидкостью и газом представлена в работе Sherwood et al. [56].

В кинетической теории при расчете скорости столкновения молекул газа с поверхностью жидкости возможно вычислить интенсивность испарения и найти межфазное сопротивление. Коэффициент  $k_i$  обычно очень большой для капель в вакууме или для газов с низкой плотностью, примерно  $10^{-2}$ – $10^{-3}$  м/с. Этот коэффициент может быть значительно уменьшен, когда поверхностно-активные вещества адсорбируются на поверхности или в случае массопереноса сверхкритического флюида-жидкости. Lockemann и Schlunder [57] измеряли

межфазное сопротивление в жидкой фазе между сверхкритическим  $\text{CO}_2$  и метилмиристатиом или метилпальмитатом. Они показали, что это сопротивление может быть выражено с помощью корреляционной длины Орнштейна — Цернике  $\zeta$ , которое значительно увеличивается вблизи критической точки смеси, где растворимость  $\text{CO}_2$  в жидкой фазе очень велика [ $k_i \sim \exp(-\zeta)$ ]. Если корреляционная длина Орнштейна — Цернике  $\zeta$  увеличивается в 4 раза, межфазный коэффициент массопереноса  $k_i$  будет уменьшен на два порядка, после чего общий коэффициент массопереноса полностью будет преобладать над межфазным сопротивлением. Lockemann и Schlunder [57] объясняют межфазное сопротивление эффектом сольватации  $\text{CO}_2$  молекул «жидкими» молекулами, тогда рабочие условия показывают, что сольватация при высоких давлениях и адсорбция поверхностно-активного вещества на границах жидкости эквивалентны по своему воздействию. Следует отметить, что проведенные ими эксперименты показали, что коэффициент внутреннего массопереноса (в жидкой фазе) уменьшался с увеличением  $P_m$ .

В настоящее время при экспериментировании с капельками этанола внешний массоперенос в сверхкритическом флюиде более важен, чем внутренний массоперенос. Поведение коэффициента массопереноса на рисунке 27 можно объяснить с помощью модели молекулярного адсорбционно-десорбционного процесса, аналогичного тем, что используются для кристаллизации или растворения [73]. В этом случае существуют барьеры для сольватации и активации энергии во время фазового перехода на границе фаз:

$$k_i = B_T \exp \left[ - \frac{(E_A + \Delta H)}{RT} \right], \quad (49)$$

где  $E_A$  и  $\Delta H$  — соответствующая энергия активации и энтальпия фазового перехода, а коэффициент  $B_T$  определяет максимум вероятности того, что молекулы пересекут границу раздела между фазами жидкости и сверхкритическим флюидом (в газообразной фазе). Эта простая связь может объяснить поведение коэффициента массопереноса на рисунке 27, когда в нем доминирует межфазное сопротивление. Действительно,  $k_i$  возрастает с температурой  $T$  согласно уравнению (49); также оба параметра  $E_A$  и  $\Delta H$  должны уменьшаться с увеличением давления, поскольку структура и состав жидкой и газообразной фаз становятся очень похожими друг на друга около критической точки смеси. Снижение  $\Delta H$  с давлением для системы «этанол —  $\text{CO}_2$ » было подтверждено интерферометрическими исследованиями струйного смешивания, описанными в разделе 2.2. В соответствии с уравнением (43) диффузионный коэффициент массопереноса  $k_D$  также может увеличиваться параллельно с коэффициентом  $k_i$  в результате более интенсивной конвекции в пределах границ диффузионного слоя.

Результаты этого раздела показывают, что модели, основанные на чисто диффузионных механизмах массо- и теплопередачи, являются неполными, поскольку неравновесная поверхностная концентрация, сопротивление межфазного массопереноса и динамический режим жидкости вокруг и внутри капель должен быть представлен согласно уравнениям (42)–(49).

## ВОПРОСЫ

1. Что такое классическая модель испарения капли?
2. Какое уравнение используется для оценки коэффициентов летучести и композиционной зависимости плотностей газа и жидкости?
3. Что такое межфазное сопротивление и в каком случае коэффициент межфазного сопротивления может быть значительно уменьшен?

## 5.5. ФОРМИРОВАНИЕ ЧАСТИЦ

### 5.5.1. ОСАЖДЕНИЕ В СТРУЙНОМ ПЕРЕМЕШИВАНИИ

Процесс кристаллизации или осаждения включает зарождение и рост кристаллов (частиц) из перенасыщенного раствора и часто происходит путем агломерации кристаллов. Перенасыщение является движущей силой для осаждения, которое определяется разницей между реальной концентрацией раствора и равновесной концентрацией растворенного вещества  $c_{eq}$  ( $P$ ,  $T$ ) при заданном давлении и температуре. Строгое определение перенасыщения связано с разностью химического потенциала  $\Delta$ :

$$s_{aff} = \frac{-\Delta\mu}{kT} = \ln \frac{\gamma c}{\gamma_0 c_{eq}}, \quad (50)$$

где  $c$  — концентрация растворенного вещества;  $c_{eq}$  ( $P$ ,  $T$ ,  $c_i$ ) — концентрация равновесного раствора;  $\gamma$  и  $\gamma_{eq}$  — соответствующие коэффициенты активности;  $s_{aff}$  — бесконечно малое аффинное подобие.

В растворах сверхкритических флюидов коэффициентами активности являются функции давления, температуры и состава смеси. Для большинства антисольвентных процессов осаждения с  $\text{CO}_2$ , перенасыщение всегда происходит путем изменения концентрации ( $c$  или  $c_{eq}$ ) с малым изменением давления и температуры. Для очень низких концентраций нелетучего растворенного вещества зависимость  $\gamma(c)$  часто незначительна и  $\gamma/\gamma_{eq} \approx 1$ . Таким образом, упрощенное определение перенасыщения  $S$

$$S = \frac{c}{c_{eq}} \approx S_a = \frac{a}{a_{eq}}$$

может быть применено и непосредственно рассчитано по экспериментальным данным.

Перенасыщение на начальных этапах осаждения можно охарактеризовать как максимальное достижимое перенасыщение  $S_m$ . Это соответствует идеальному случаю «свежего  $\text{CO}_2$ -раствора», полностью смешиваемого на молекулярном уровне и рассчитанного в работе (B. Y. Shekunov, J. BaJdyga, P. York, 2001) [58]:

$$S_m = \frac{c_0 Q_A}{c_{eq}(Q_A + Q)}, \quad (51)$$

где  $Q_A$  и  $Q$  — скорости потока (моль/с) раствора и  $\text{CO}_2$  соответственно;  $c_0$  — молярная концентрация растворенного вещества.

Частицы создаются в перенасыщенном растворе с помощью образования центров кристаллизации. Существуют различные механизмы зарождения центров кристаллизации. В первичном центре кристаллизации на создание кристаллов не влияет присутствие самого кристаллизующегося материала. Первичное зарождение центров кристаллизации может быть гомогенным (когда оно происходит в отсутствие любой твердой фазы) или гетерогенным (когда образованию центров кристаллизации помогает наличие чужеродных твердых частиц). Во втором случае формирование твердой фазы находится под влиянием присутствия твердой фазы кристаллизационного материала. При осаждении из сверхкритического флюида перенасыщение обычно является высоким, поэтому вторичное образование центров кристаллизации либо не происходит, либо имеет незначительный эффект, а наиболее важным механизмом является первичное гомогенное образование центров кристаллизации, которое может быть аппроксимировано, как в работе [58]:

$$R_{N, homo} = R_{N, max} \exp \{-A[\ln(S)]^2\}, \quad (52)$$

где  $A$  — постоянная, прямо пропорциональная удельному поверхностному термодинамическому потенциалу ядер и обратно пропорциональная  $T^3$ , тогда как  $R_{N, max}$  — максимально возможная скорость зарождения центров кристаллизации (где  $S \rightarrow \infty$ ).

Гетерогенное зарождение центров кристаллизации, которое происходит на внешней поверхности, обычно имеет гораздо более низкую поверхностную энергию, чем у кристаллов растворенного вещества, что означает, что величина  $A$  значительно меньше в случае гетерогенного зарождения. Различие между двумя кинетиками зарождения центров кристаллизации заключается в том, что используются гетероциклические ядра, ограничивая максимально возможную скорость гетерогенного зарождения  $R_{N, max}$ . Константа формирования центров кристаллизации определяется как время, необходимое для образования заданного числа центров кристаллизации:  $\tau_N \sim 1/R_N$ .

Рост кристалла в перенасыщенном растворе является сложным процессом, который происходит в несколько этапов, включая транспортировку растворенного вещества из основного объема раствора через диффузионные и адсорбционные слои, интеграцию в кристаллическую решетку и высвобождение и перенос теплоты кристаллизации. Простейшее описание этого сложного процесса основано на теориях диффузионных реакций (O. Sohnel, 1992; J. W. Mullin, 1993) [59, 60]. Согласно этим теориям, растворенное вещество переносится на поверхность кристалла с движущей силой  $c - c_i$ , а затем интегрируется в поверхность с помощью приложения силы  $c_i - c_{eq}$ . Эти два этапа могут быть представлены как

$$N = k_D(c - c_i) = k_r(c_i - c_{eq})^g, \quad (53)$$

где  $N$  — молярный поток (т. е. число молей, диффундирующих и интегрирующихся в единицу времени в единичной кристаллической области);  $k_D$  — коэффициент диффузионного массопереноса;  $k_r$  — константа скорости процесса интегрирования поверхности;  $g$  — порядок (часто  $g = 2$ ).

На практике скорость роста кристаллов может быть выражена как скорость вытеснения кристаллической поверхности или скорость увеличения массы частицы. Чаще всего темпы роста определяются как

$$G = \frac{k_a R_G}{3k_V \rho_C}, \quad (54)$$

где  $R_G$  — скорость осаждения масс;  $k_V$  и  $k_a$  — объемный и поверхностный коэффициенты соответственно;  $\rho_C$  — плотность кристалла.

Константа роста определяется как время, необходимое для достижения определенной массы кристаллов:  $\tau_R \sim 1/GA$ , где  $A$  — удельная площадь поверхности частиц на единицу объема суспензии.

Осаждение приводит к созданию дисперсной фазы, представленной как совокупность частиц, которые со временем меняют как свое пространственное положение, так и свойства, например размер частиц, форму и массу. Частицы создаются путем возникновения центров кристаллизации и увеличения их размеров в процессе роста. Из-за большого количества частиц легче рассматривать не каждую индивидуально, а общие свойства агломерации частиц. Теория прогноза распределения многомерных частиц основана на уравнениях баланса популяции. Для единственной внутренней координаты  $L$  (размер кристалла), уравнение баланса популяции принимает форму

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_j}(u_{pj}\Psi) + \frac{\partial}{\partial L}(G\Psi) = B - D, \quad (55)$$

где

$$\Psi(L_0, x, t) = \frac{R_N[S(x, t)]}{G[S(x, t)]}, \quad (56)$$

где  $L_0$  — размер ядра кристаллизации;  $u_p = (u_{p1}, u_{p2}, u_{p3})$  — вектор скорости частицы вдоль координат в рабочем пространстве  $x = (x_1, x_2, x_3)$ ;  $B$  и  $D$  — рождение и исчезновение функций, представляющих соответственно эффекты агломерации и разрушения.

Чтобы описать образование частиц в турбулентном потоке, в дальнейшем будем использовать мгновенное преобразование уравнения баланса популяции для роста независимо от размеров:

$$\frac{\partial m_i}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_j}(u_{pj}m_i) = 0^i R_N + i G m_{i-1} + B_m - D_m \quad (57)$$

для  $i = 0, 1, 2, 3, \dots$  и с моментами импульса, определяемыми как

$$m_i(x, t) = \int_0^\infty \Psi(L, x, t) L^i dL. \quad (58)$$

Уравнение (57) использует локальные мгновенные значения скорости и концентрации. Описать влияние на процесс турбулентных флуктуаций скорости частиц так же, как и на концентрацию частиц, можно используя форму баланса популяции, усредненную по числу Рейнольдса:

$$\frac{\partial \bar{m}_i}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_j} (\bar{u}_{pj} \bar{m}_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left( D_{pT} \frac{\partial \bar{m}_i}{\partial x_j} \right) 0^i \bar{R}_N + \overline{i G m_{i-1}} + \bar{B}_m - \bar{D}_m, \quad (59)$$

где  $D_{pT}$  — локальное значение коэффициента турбулентной диффузии частиц.

Термины  $\bar{R}_N$  и  $\overline{i G m_{i-1}}$  могут быть рассчитаны с использованием теории смешанной фракции, описанной в разделе 5.3.2, как показали BaJduga и Orsiuch [61]. Конечно, может использоваться и любой другой метод вероятностной плотности распределения. Уравнение (59) должно быть решено вместе с уравнениями с частными производными, описывающими балансы импульса, массы и состояния, и должно быть дополнено конкретной кинетикой зарождения, роста, агломерации и разрушения частиц. Затем можно использовать моменты импульса  $\bar{m}_i$  для вычисления среднего размера частиц, например,  $L_{32} = \bar{m}_3 / \bar{m}_2$  или  $L_{43} = \bar{m}_4 / \bar{m}_3$ .

## ВОПРОСЫ

1. Каковы коэффициенты активности в растворах сверхкритических флюидов?
2. Каким уравнением можно описать влияние на процесс турбулентных флуктуаций скорости частиц?

### 5.5.2. СРАВНЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И ТЕОРЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ ДЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ СТРУЙНОГО ОСАДКА (ПРЕЦИПИТАЦИИ)

Рассмотрим теперь пример осаждения диспергированного раствора, стимулированного сверхкритическими флюидами (**SEDS**) на примере этанольного раствора препарата ацетаминофена (парацетамола). Цель исследования состояла в рассмотрении влияния скорости потока через коаксиальное сопло на размер и форму частиц. Присутствует интенсивное смешивание раствора свежего субстрата с сверхкритическим антирастворителем в коаксиальных каналах для раствора и антирастворителя, соответственно. Процесс смешивания анализировали с помощью CFD-моделирования (расчетной флюидодинамики). В уравнении с усреднением по Фавру (59) использовались условия моделирования  $\tilde{y}_{pj} = \tilde{y}_j$  и  $D_{pT} = D_T$ , так как скорость очень малых частиц практически не отличается от скорости жидкости. Явлением агломерации и распада пренебрегли, а перенасыщение исчислялось из локальной концентрации ацетаминофена и этанола, тогда как средние концентрации были рассчитаны по балансам состояния.

Например, концентрация ацетаминофена была рассчитана из выражения, вытекающего из уравнения (59):

$$\frac{\partial(\bar{\rho}\tilde{c}_c)}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x_j}(\bar{\rho}\tilde{u}_j\tilde{c}_c) = \frac{\partial}{\partial x_j}\left[\bar{\rho}(D_m + D_T)\frac{\partial\tilde{c}_c}{\partial x_j}\right] - \bar{\rho}k_a\rho_p\frac{\widetilde{Gm_2}}{2M_c}. \quad (60)$$

Здесь приведены результаты для фиксированного состава смеси (т. е. для тех же самых пропорций массового расхода двуокиси углерода  $Q$  и раствора ацетаминофена в этаноле  $Q_A$ ), но при разных скоростях потока, выраженных через число Рейнольдса  $Re = u_0 d_0 / \nu$ , где  $u_0$  — скорость жидкости при выходе из сопла,  $d_0$  — диаметр сопла,  $\nu$  — кинематическая вязкость. Примеры вычислений показаны на рисунках 17 и 19. На рисунке 19а, б показано, что наиболее интенсивное предварительное смешение происходит в камере сопла, и самое высокое перенасыщение происходит там же. На рисунке 17а показано, что в емкости образования частиц в области струи наблюдается интенсивная циркуляция, что означает, что в системе происходит обратное смешивание свежей жидкости из сопла с пластовым флюидом. Это разбавление раствора уменьшает перенасыщение.

Понижение температуры происходит из-за теплоты смешения и из-за влияния эффекта Джоуля — Томсона (рис. 19б). Интересно отметить, что сверхкритический диоксид углерода проникает в ядро потока, поэтому осаждение может начинаться в подающих трубах самостоятельно. Вычисленные распределения перенасыщения  $S$  ацетаминофена для  $Re = 1000$  и  $Re = 30\,000$  показаны на рисунке 28. Увеличение скорости потока в 30 раз увеличивает максимум перенасыщения с 8,2 до 11,5, а также увеличивает пространство зоны высокого перенасыщения, но уменьшает время выдерживания в данной области. После этого жидкость охлаждается в сопле вследствие эффекта Джоуля — Томсона, и охлаждение дополнительно увеличивает перенасыщение.

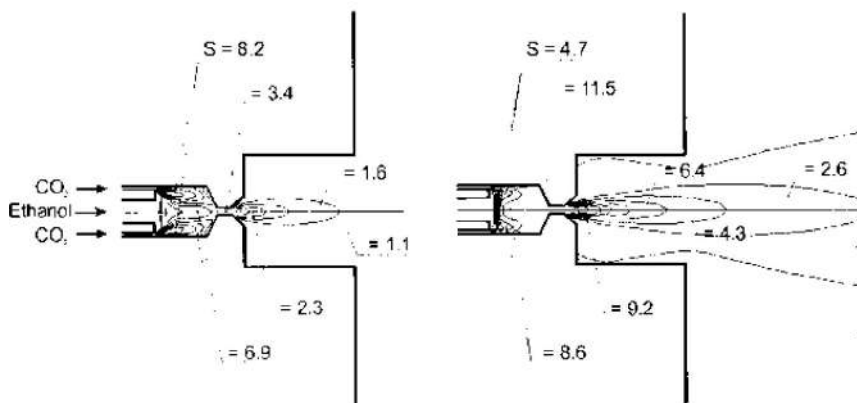


Рис. 28

Уровни перенасыщения при осаждении ацетаминофена с помощью двухкомпонентного смесительного сопла при  $Re = 1000$  (а) и  $Re = 30\,000$  (б). Давление составляет 20 МПа, температура 323,1 К. Соотношение объемного расхода между  $CO_2$  и этанольным раствором постоянно при  $Q/Q_A \approx 100$  [147]



Результаты экспериментальных исследований сравнивают с аналитическими расчетами, используя CFD-моделирование (расчетную флюидодинамику), а также аналитическую модель, основанную на разных масштабах неоднородности и временных константах [58], как показано на рисунке 29. Быстрое уменьшение размера частиц при  $Re < 10\,000$  обусловлено установкой степени избыточного насыщения (фактически, уровнем концентрации и температуры). Вверх до максимума  $Re \approx 10\,000$ , сверхнасыщение увеличивается в системе с увеличением  $Re$ , что приводит к уменьшению размера частиц, поскольку скорость образования центров кристаллизации более чувствительна к перенасыщению, чем скорость роста кристаллов.

При  $Re > 10\,000$  доминирующим эффектом является уменьшение времени задерживания элементов жидкости в области высокого перенасыщения. Следовательно, поскольку уменьшается время, необходимое для формирования центров кристаллизации в областях с очень высоким перенасыщением с увеличением значения  $Re$ , размер частиц снова увеличивается. Экспериментальные данные и аналитические расчеты хорошо согласуются с предыдущим обсуждением, хотя ясно, что CFD-моделирование лучше прогнозирует поведение при больших  $Re$ , где преобладают эффекты макроперемешивания. Аналитическая модель позволяет включать специфические особенности микроперемешивания, которые более важны для малых значений  $Re$  и, следовательно, лучше предсказывают образование крупных частиц.

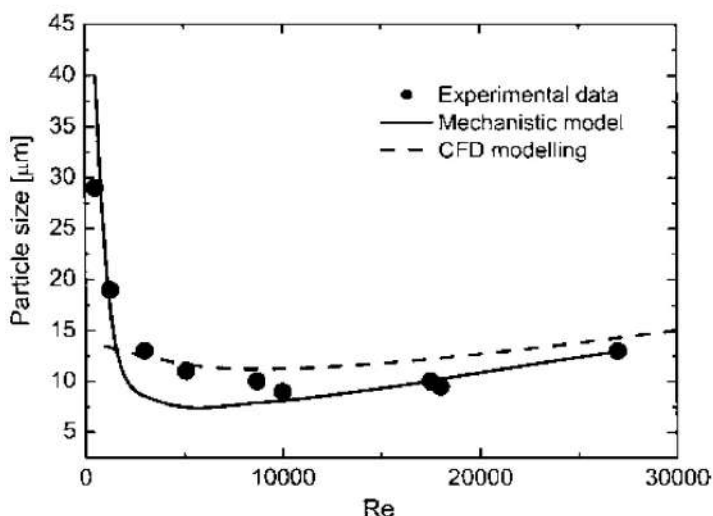


Рис. 29

Сравнение экспериментальных данных с аналитическими расчетами для частиц средних размеров кристаллов ацетаминофена, полученных путем струйного смешивания. Результаты прямых CFD-расчетов макросмешивания и уровня перенасыщения на рисунке 16 и механистического моделирования, что позволяет включить эффекты молекулярной вязкости и коэффициента диффузии по скорости смешивания в молекулярном масштабе (важно для низкого значения  $Re$ ) [147]

В идеале, более сложное CFD-моделирование может включать эффекты молекулярной вязкости и диффузии на скорости смешивания в молекулярном масштабе, полное вычисление гравиметрических расчетов по размерам частиц. Изменение  $Re$  также влияет на формы частиц; при  $Re \ll 10\,000$  образуются иглообразные кристаллы, тогда как при  $Re > 10\,000$ , наблюдаются более компактные, изометрические кристаллы, так как начальный уровень перенасыщения также влияет на морфологию частиц.

## ВОПРОСЫ

1. Какими процессами можно пренебречь при анализе с помощью CFD-моделирования (расчетной флюидодинамики)?
2. Чем обусловлено быстрое уменьшение размера частиц при числах Рейнольдса  $Re < 10\,000$ ?
3. Какой доминирующий эффект при числах Рейнольдса  $Re > 10\,000$ ?

### 5.5.3. КАПЕЛЬНОЕ ОСАЖДЕНИЕ

Рассмотрим теперь осаждение в двухфазной системе при сверхкритических условиях для одной из фаз и  $P < P_m$ . Рассмотрим появление центров кристаллизации частиц в случае, когда раствор субстрата распыляется в сверхкритическую жидкость.

В этом случае зарождение и немедленный рост центров кристаллизации частиц ограничены богатой этанолом фазой, и перенасыщение образуется в растворе капель в результате «расширения капли», но более важным является «капельное испарение». Испарение более важно, поскольку равновесная концентрация  $CO_2$  в капельке обычно недостаточно высока, чтобы инициировать зарождение. Например, ацетаминофен может осаждаться при концентрациях  $CO_2$  в богатой этанолом фазе, выше 90% мольной доли. Это возможно только около критической точки смеси  $msr$ , где капли также становятся нестабильными. Около сопла капельное число Рейнольдса велико и концентрация растворителя в сверхкритическом  $CO_2$  мала; поэтому основное сопротивление переносу массы для абсорбции  $CO_2$  находится в жидкой фазе. Испарение этанола контролируется комбинированным коэффициентом массопереноса  $K$ , который включает межфазное и диффузионное сопротивление переносу. Интересно сравнить постоянные времени для насыщения капель и испарения. Константа постоянной времени для насыщения капель  $CO_2$ ,  $\tau_D$ , может быть рассчитана, используя коэффициент массопередачи жидкой фазы  $k_L$ .

Для полностью неподвижных капель диаметром  $10\,\mu m$ , значение  $\tau_D = 10\,ms$  для  $D_L = 10^{-8}\,m^2/s$  и  $\tau_D = 4\,ms$  для  $D_L = 10^{-9}\,m^2/s$ . Это согласуется с оценкой Wubbolts et al. [79], где для неподвижных капель диаметром 35 мкм и  $D_L = 2 \cdot 10^{-9}\,m^2/s$  время, необходимое для достижения 90% насыщения, составляло порядка 40 мс. Когда есть циркуляция внутри капли, постоянные времени  $\tau_D$  будут уменьшаться на коэффициент 2,7.

В тонком слое присутствует сопротивление на границе раздела, коэффициент  $K$  почти постоянен, и можно пренебречь влиянием кривизны падения капли на общее сопротивление. Для насыщенной  $\text{CO}_2$  этанольной капли объема  $V$  и поверхности  $A$  баланс этанола считается:

$$\frac{d(Vc_L)}{dt} = -AKc_L, \quad (61)$$

где  $c_L$  — концентрация этанола в капле, а концентрация этанола в объеме  $\text{CO}_2$  считается пренебрежимо малой.

Из уравнения (61) мы можем получить соотношение для скорости усыхания капль:

$$\frac{d[d(t)]}{dt} = -2K, \quad (62)$$

что приводит к линейному уменьшению размера капль, когда сопротивление межфазного переноса контролирует уменьшение испарения:

$$d(t) = d_{d0} - 2Kt. \quad (63)$$

Этот закон линейной усадки отличает этот случай от « $d_{d0}^2$ -закона», представленного в уравнении (40). Уравнение (63) показывает, что время существования капль равно

$$t_{vap} = \frac{d_{d0}}{2K}. \quad (64)$$

Кроме того, для капль диаметром  $d_{d0} = 10 \mu\text{m}$  при температуре  $T = 353,15 \text{ K}$  и давлении  $P = 8 \text{ МПа}$  (соответственно, коэффициент массопереноса  $K = 5 \cdot 10^{-5} \text{ м/с}$ ) приводит к  $t_{vap} = 0,125 \text{ с}$ , что намного больше времени насыщения  $\tau_D$ . Поскольку равновесная концентрация  $\text{CO}_2$  в капле слишком мала, чтобы создать перенасыщенный раствор растворенного вещества, перенасыщение нелетучих соединений раствора создается его концентрацией вследствие испарения растворителя из капльки [58]:

$$\frac{dc_c}{dt} = -\frac{d \ln V}{dt} c_c = -\frac{3}{d} \frac{d[d(t)]}{dt} = \frac{6Kc_c}{d_{d0} - 2Kt} = \frac{3c_c}{t_{vap} - t}, \quad (65)$$

что после интегрирования выражения дает

$$c_c = c_{c0} \left( \frac{t_{vap}}{t_{vap} - t} \right)^3 \quad (66)$$

с  $t_{vap}$ , задаваемым уравнением (64).

Уравнения (65) и (66) показывают, что процесс создания перенасыщения в капльках происходит намного медленнее, чем в гомогенных смесях (т. е. при давлении выше критического давления смеси). Увеличение концентрации растворенного вещества в два раза с  $c_{c0}$  до  $2c_{c0}$  наблюдается после  $0,206t_{vap}$ , что для времени существования капль  $t_{vap} = 0,125 \text{ с}$  дает  $26 \text{ мс}$  по сравнению с значе-

ниями времени микроперемешивания порядка 0,01 мс (B. Y. Shekunov, J. BaJdyga, P. York, 2001) [58].

Это наблюдение подтверждается оптическими измерениями, которые указывают на относительно длительное время испарения для капель, диспергированных в струе достаточно длинного распыла струи (порядка 10 см или более), наблюдаемой в сверхкритическом  $\text{CO}_2$  при условии  $P < P_m$ . Предполагая, что существует контроль сопротивления пограничного слоя диффузии газообразной фазы и что капельки меньше колмогоровского микромасштаба получают во время выпаривания для тех же рассмотренных условий (более раннее время испарения капель в диапазоне от 0,025 до 0,050 с), этот временной промежуток дольше, чем время насыщения  $\tau_D$ , но меньше времени, полученного в результате межфазного сопротивления, и поэтому анализ оценки порядка величин не рассматривается в этом разделе. Но когда нет межфазного сопротивления, сопротивление внешнего пограничного слоя диффузии контролирует скорость испарения.

После того как было создано перенасыщение, кристаллизация происходит за счет образования центров кристаллизации и дальнейшего роста кристаллов внутри капель. При высоком перенасыщении в большинстве случаев формирование центров кристаллизации может быть гомогенным, но раствор содержит много очень мелких чужеродных твердых частиц, которые становятся активными центрами формирования гетерогенной кристаллизации, которые доминируют в процессе при более низком перенасыщении. Когда жидкость делится на столько маленьких капелек, что их число превышает количество посторонних частиц, некоторое количество капель не будут содержать примесей, и растворенное вещество будет кристаллизоваться гомогенно внутри таких капель. Это показывает, что в некоторых мелких каплях формирование центров кристаллизации может начаться позже, чем в других каплях, меняя морфологию и размеры частиц.

В некоторых случаях может наблюдаться другой вид формирования гетерогенных центров кристаллизации на поверхности капли. Высокая концентрация растворенного вещества создается на поверхности капли, и когда капля достаточно мала, т. е. постоянная времени диффузии растворенного вещества  $\tau_D = [d(t)]^2/D_c$  меньше, чем время испарения и время формирования центров кристаллизации, то в зависимости от размера капли и перенасыщения, процесс может протекать либо с образованием одного центра кристаллизации с одной кристаллической частицей на каплю, либо с образованием многих центров кристаллизации, приводящим к образованию поликристаллических частиц, образованных из многих ядер в одной капле. В случае больших капель диффузионное время  $\tau_D$  для растворенного вещества может быть намного больше индукционного времени, а затем массопередача в пределах капли может контролировать процесс, превращая их, например, в полые частицы.

В случае капель слишком маленького объема их содержимое может рассматриваться как гомогенное поле, процесс может быть смоделирован путем применения к каждой капле макроскопического баланса популяции частиц в виде

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial L}(G\Psi) + \Psi \frac{d \ln V}{dt} = B - D, \quad (67)$$

где

$$\frac{d \ln V}{dt} = -\frac{1}{t_{\text{vap}} - t}$$

с граничным условием

$$\Psi(L_0) = \frac{R_{N,homo}(S) + R_{N,hetero}(S)}{G(S)},$$

где  $L_0$  — размер ядер.

Это уравнение необходимо решить вместе с динамическим балансом кристаллизующего растворенного вещества:

$$\frac{dc_c}{dt} = -c_c \frac{d \ln V}{dt} - \frac{k_a \rho_p G \int_0^\infty \Psi L^2 dL}{2M_c} = \frac{3c_c}{t_{\text{vap}} - t} - \frac{k_a \rho_p G \int_0^\infty \Psi L^2 dL}{2M_c}, \quad (68)$$

а также с балансами растворителя и антирастворителя.

В начальный период испарения в капле отсутствует кристаллизация и уравнение (68) эквивалентно уравнению (65), получая концентрацию растворенного вещества. Когда начинается кристаллизация, возникает конкуренция между первым членом в правой части уравнения (68) (создание перенасыщения) и вторым членом (расходование перенасыщения). Для капель с меньшим временем испарения перенасыщение происходит быстрее и на более высоком уровне, что, очевидно, способствует созданию центров кристаллизации и приводит к созданию меньших по размерам первичных частиц, созданных в изначально меньших каплях. Так как создание перенасыщения в каплях является относительно медленным, существует хорошая вероятность возникновения гетерогенных центров кристаллизации в капельках, когда присутствует много посторонних частиц. Концентрация примеси на единицу объема обычно не зависит от размера капель, и размер первичных частиц в этом случае не должен зависеть от размера капель. Например, экспериментальные результаты, полученные Шекуновым и др. [80], показывают, что для ацетаминофена размер формирующихся частиц очень мало зависит от давления и температуры при  $P < P_m$ . Поскольку сильные агломераты создаются в основном в капельках (для «напитывания» углеродными соединениями возникающих частиц необходимо высокое перенасыщение), их масса уменьшается с уменьшением размера капли, что зависит от количества растворенного вещества, доступного в капле. Скорость создания перенасыщения путем усадки капли может влиять на структуру агломератов; при более быстрой усадке можно ожидать, что агломераты будут иметь более высокий фрактальный размер и, следовательно, меньший размер при одной и той же массе. Эти наблюдения были подтверждены экспериментальными результатами: измеренный размер агрегатов увеличивался с концентрацией растворенного вещества и быстро уменьшался с числом Рейнольдса  $Re$  около сопла. Размер агломератов в этой работе варьировался от 1 до 100 вновь

формирующихся частиц, что хорошо соответствовало прогнозируемому размеру капли при различных числах Рейнольдса.

## ВОПРОСЫ

1. Чем отличается осаждение в двухфазной системе от осаждения в однофазной системе?
2. От чего зависит формирование гомогенных центров кристаллизации и гетерогенных центров кристаллизации?

### 5.5.4. АГРЕГАЦИЯ ЧАСТИЦ

Осаждение приводит к возникновению дисперсии твердое тело — жидкость. Формирующиеся маленькие частицы этой дисперсии имеют тенденцию к агрегации (т. е. к образованию более крупных объектов, называемых агломератами). Скорость агломерации частиц зависит от размера частиц, формы и количества, а также от состава раствора и структуры потока. На скорость агломерации непосредственно влияют коллоидные силы, гидродинамические силы и инерция частиц. Смолуховский [62] сообщил о двух граничных типах агломерации коллоидных частиц.

1. *Перикинетический, где агломерация происходит в результате броуновского движения.* Для определения столкновения было предложено следующее уравнение скорости частиц:

$$N_{ij,P} = 4\pi D_{ij}^{\infty} (a_i + a_j) c_i c_j, \quad (69)$$

где  $N_{ij,P}$  — число столкновений частиц радиусов  $a_i$  и  $a_j$  соответственно, за единицу времени и единицу объема,  $c_i$  представляет собой концентрацию частиц радиуса  $a_i$ ;  $D_{ij}^{\infty}$  — коэффициент взаимной броуновской диффузии.

$$D_{ij} = D_i + D_j = \frac{kT}{6\pi\mu} \left( \frac{1}{a_i} + \frac{1}{a_j} \right). \quad (70)$$

2. *Ортокинетический, где агломерация преобладает в конвекции.* То есть частицы транспортируются в движении окружающей жидкости. Анализ Смолуховского, ограниченный ламинарным потоком с поперечным градиентом скорости, был расширен до турбулентного течения, описанного в работе Саффмана и Тернера [63]:

$$N_{ij,O} = 1,3 \left( \frac{\epsilon}{\nu} \right)^{1/2} (a_i + a_j)^3 c_i c_j, \quad (71)$$

где  $\epsilon$  — скорость диссипации энергии на единицу массы;  $\nu$  — кинематическая вязкость. Оба эти уравнения пренебрегают силой взаимодействия частиц. В статической жидкости силы взаимодействия частиц можно включить, разделив соотношение Смолуховского (уравнение (69)) по коэффициенту

устойчивости Фукса,  $W$ , как указано Спилманом [64]. Таким образом, коэффициент устойчивости Фукса,  $W$ , зависит от свойств состава раствора, а также от свойств поверхности частиц. Коэффициент устойчивости  $W$  также зависит от потока, когда жидкость находится в движении. В предельных значениях очень высокой скорости рассеяния энергии и достаточно больших размеров частиц (т. е. при достаточно больших значениях числа Пекле  $Pe \gg 1$ )

$$Pe = \frac{(\epsilon/v)^{1/2}(a_i + a_j)^2}{D_{ij}} \quad (72)$$

получаем  $N_{ij,0} \approx N_{ij,p}/W$ .

При столкновении частиц в жидкостях с высокой плотностью эффекты инерции частиц обычно незначительны. Но когда плотность частиц велика по сравнению с плотностью жидкости, должно быть включено влияние инерции. Это можно сделать, используя теории, описанные в [64–67].

Но не каждое столкновение приводит к агломерации. Когда есть достаточно времени во время столкновения и достаточное количество вещества (т. е. когда раствор перенасыщен), между частицами, формирующими агломераты, может быть образован кристаллический мост. В противном случае либо столкновение неудачно, либо формируется слабая агрегатная связь (ван-дер-ваальсовы силы). Чтобы выразить скорость агломерации  $\beta_{ij}$  по отношению к скорости столкновения  $N_{ij}$ , нужно также воспользоваться концепцией вероятности или эффективности агломерации,  $Pa$ :

$$\beta_{ij} = N_{ij}Pa. \quad (73)$$

Эффективность агломерации,  $Pa$ , зависит от перенасыщения, геометрии столкновения и свойств потока, а именно,  $Pa$  увеличивается с увеличением в перенасыщении соотношения  $S$  и уменьшается с увеличением скорости диссипации энергии  $\epsilon$ .

Анализ только что представленной кинетики агломерации позволяет нам интерпретировать эффекты перенасыщения по размеру частиц, как показано на рисунке 18. При низком перенасыщении доминирует гетерогенное зарождение. Скорость возникновения центров кристаллизации тогда менее чувствительна к перенасыщению, чем скорость роста кристаллов, поэтому увеличение начального перенасыщения влияет больше на скорость роста кристаллов, чем на скорость формирования центров кристаллизации, соответственно, образуются более крупные кристаллы.

При более высоком начальном перенасыщении преобладает гомогенное зарождение и скорость формирования центров очень чувствительна к перенасыщению. Таким образом, больше формируются маленькие частицы, если начальное перенасыщение непрерывно растет. При еще более высоком начальном перенасыщении большое количество мелких частиц (бóльших  $c_i$  и  $c_j$  в уравнении (71)) приводит к бóльшему количеству столкновений. Благодаря высокому перенасыщению, эффективность агломерации ( $Pa$  в уравнении (73))

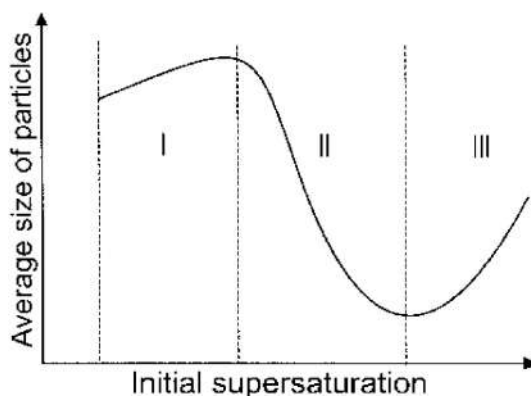
также высока, и таким образом наблюдается увеличение размера агломерата с увеличением начального перенасыщения. Агломерация крупных частиц в ортокINETическом режиме подвержена гидродинамике. Если увеличивать скорость диссипации энергии, то увеличивается скорость столкновения, но уменьшается эффективность агломерации  $Pa$ , ограничивая максимально достижимый размер агломератов. Изометрические и аморфные частицы часто агломерируются (область III на рисунке 18), образуя частицы очень сложной структуры.

Агрегатные формы часто характеризуются агломератами фрактальных размеров. Массовая фрактальная размерность агрегата  $D_F$  связана с его массой  $m$  следующим образом:

$$m \sim L^{D_F}, \quad (74)$$

где  $L$  — агрегатный размер. Чем меньше фрактальная размерность, тем более открытая структура агломерата. На практике фрактальные размеры находятся в диапазоне от 1,8 до 3, причем  $D_F$  сильно связан с механизмом агломерации.

В литературе были описаны многочисленные примеры агрегации частиц в осадках сверхкритических флюидов. Перенасыщение во время осаждения сверхкритического флюида обычно велико, поэтому частицы могут быть получены по обе стороны минимума (рис. 30). В результате различные размеры частиц зависят от перенасыщения (или чаще от концентрации растворенного вещества). В работе Bristow et al. [68] показано, что для маленьких растворенных молекул, таких как ацетаминофен, размер частиц уменьшается при увеличении концентрации осаждения выше уровня  $P_m$ ; но, по причине влияния агрегационного механизма в капельках, размер увеличивается, когда осаждение происходит ниже уровня  $P_m$ . Существует несколько различных ситуаций, в которых доминирует механизм агрегации. Например, осаждение полимеров или белков выше уровня  $P_m$  обычно приводит к образованию наночастиц.



**Рис. 30**

Влияние начального перенасыщения на средний размер частиц:

I — поддиапазон гетерогенного зарождения; II — преобладает гомогенное зарождение; III — преобладает агломерация [147].



Согласно уравнениям (70) и (72), агрегация происходит приблизительно при диаметрах частиц меньше  $d^{-6}$ . Такая сильная зависимость приводит к агрегации наночастиц, в частности материалов с сильным взаимодействием между частицами, отраженном в высоких значениях числа  $Ra$ . В результате большинство белков и полимеров демонстрируют увеличение размера частиц с увеличением концентрации растворенного вещества. Эта агрегация обычно может быть уменьшена путем оптимизации термодинамики жидкости или путем осаждения добавками или поверхностно-активными веществами.

## ВОПРОСЫ

1. Какие существуют граничные типы агломерации коллоидных частиц?
2. От чего зависит коэффициент устойчивости Фукса?
3. Как влияют на процесс агломерации низкое начальное перенасыщение и высокое начальное перенасыщение?

## 5.6. ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МАТЕРИАЛА И КОНСТАНТЫ ВРЕМЕНИ ОСАЖДЕНИЯ

Как показано ранее, размер частиц и их форма, полученные при осаждении сверхкритических флюидов, зависят как от термодинамики жидкости и процессов смешивания и дисперсии, так и от свойств материала. В этом разделе мы суммируем наиболее важные характеристики протекания процесса.

Одной из наиболее важных материальных констант является равновесная растворимость  $c_{eq}$ . Высокая растворимость в сверхкритических флюидах (ориентировочные пороговые значения в большинстве случаев могут быть приняты около  $c_0 \approx 10^{-4}$  молярной фракции, приводящей к перенасыщению  $S_m < 2$ ) означает, что перенасыщение слишком мало, чтобы инициировать гомогенное зарождение, и будут конструироваться очень большие частицы в маленьком количестве. Для большинства осадков сверхкритических флюидов, значение  $S_m$  обычно находится в диапазоне от 4 до 50. Скорость формирования центров кристаллизации является очень чувствительной функцией перенасыщения, и подчеркивается, что значения  $c_{eq}$  и  $S_m$  должны измеряться и в модифицированных флюидах (например,  $\text{CO}_2 + \text{этанол}$ ), потому что даже при очень быстром перемешивании осаждение все равно происходит в обогащенной растворителем фазе сверхкритического флюида. Порог  $c_{eq}$  определяет, какой метод осаждения следует использовать: метод RESS (быстрое расширение сверхкритического раствора) предпочтительнее для соединений с высокой растворимостью; однако большинство классов фармацевтических материалов малорастворимо или практически нерастворимо в  $\text{CO}_2$ , и, следовательно, нужно применять техники антирастворителя.

Другими важными материальными константами являются постоянные времени формирования центров кристаллизации ( $\tau_N$ ) и роста ( $\tau_G$ ). Небольшая величина  $\tau_N$  означает высокую скорость формирования центров кристаллизации при относительно низком перенасыщении и, следовательно, получаемом маленьком размере частиц. С другой стороны, большое значение  $\tau_G$  подразумевает небольшой темп роста частиц (например, «задерживаемый рост», когда используются некоторые поверхностно-активные вещества или добавки), что также приводит к маленькому размеру частиц. Для осаждения при  $P > P_m$  эти постоянные времени должны сравниваться с постоянной времени перемешивания  $\tau_M$ , которая содержит макро-, мезо- и микроперемешивание. Если  $\tau_M \ll \tau_N$ , перемешивание происходит очень быстро и образуются более однородные мелкие частицы, тогда как условие  $\tau_M \gg \tau_N$  приводит к большему количеству частиц и большей зависимости размера и формы частиц от гидрогазодинамики.

Для осадков в каплях, при  $P < P_m$ , постоянная времени осаждения должна быть сравнима с постоянной времени капельного испарения  $t_{vap}$ , которое линейно возрастает с диаметром капли. Очень часто уменьшение перемешивания или дисперсия также приводит к значительному снижению выхода продукта, поскольку поток выходит из сосуда без осаждения частиц. Эффект неэффективного смешивания при малом  $Re$  также предсказан из CFD-моделирования (вычислительная газогидродинамика) на рисунке 28. В большинстве применений сверхкритических флюидов высокое перенасыщение, а  $\tau_N$  сравнимо с постоянной времени перемешивания. Поэтому даже для очень быстрого сопельного перемешивания скорости жидкости и конструкции сопла должны быть оптимизированы.

Молекулярная структура соединений играет важную роль в осаждении. В фармацевтике это относительно большой процесс синтеза органических молекул лекарственного средства или макромолекул (например, полимеров или белков), образующих молекулярные связи, за исключением некоторых солей, в которых доминируют ионные взаимодействия.

Эмпирическое правило гласит, что чем проще молекулы или структурная симметрия, тем выше кристаллизация частиц, меньшая константа зарождения  $\tau_N$ , а также меньшая константа роста  $\tau_G$ . Например, относительно небольшая молекула ацетаминофена образует кристаллическую структуру, и соперничество между ее маленькими константами  $\tau_N$  и  $\tau_G$  приводит к образованию частиц размером в микрометр в диапазоне объемов от 5 до 30  $\mu m$ , в зависимости от условий смешивания (рис. 29). Для таких молекулярных кристаллов форма частиц часто определяется периодическими цепочками сильнейших межмолекулярных связей (например, водородными связями), приводящими к различным относительным скоростям роста наиболее важных граней кристалла. Низкое перенасыщение часто приводит к блокированию более медленно растущих граней, продуцируя асимметричные или игольчатые частицы. Однако при высоком перенасыщении все поверхности кристалла растут с одинаковой скоростью, поскольку присутствуют условия одинакового кинетического механизма и диф-

фузии и, следовательно, могут образовываться небольшие изометрические кристаллы (призмы) или даже округлые частицы. Поэтому при увеличении перенасыщения желательно получить больше изометрических частиц, которые являются более предпочтительными для систем доставки лекарственных веществ.

В некоторых перенасыщенных растворах могут образовываться коллоиды (положительно или отрицательно заряженные золи). По-прежнему, при более высоком начальном перенасыщении обычно образуется аморфный осадок (метастабильная компонента твердого вещества), который затем медленно превращается в кристаллическую твердую компоненту.

Некоторые материалы могут быть получены только в аморфной или полукристаллической фазе. Например, осаждение полимеров в сверхкритическом флюиде, например поли(*L*-молочная кислота) (PLLA), и белков, например лизоцима и инсулина, широко изучено. Эти молекулы образуют аморфные (белки) или полукристаллические (PLLA) структуры и обычно имеют небольшие значения как  $c_{eq}$ , так и  $\tau_N$  в сочетании с относительно большой постоянной  $\tau_G$  (малый темп роста). Аналогично, органические или неорганические соли обычно имеют очень малые константы  $c_{eq}$  и  $\tau_N$ . Это объясняет, почему легко производить очень мелкие (часто субмикронные) сферические частицы этих материалов, хотя агрегация представляет собой значительную проблему для этих соединений.

Влияние условий осаждения, таких как давление, температура, раствор и концентрация растворителя представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Качественное описание влияния различных параметров процесса  
на размер и морфологию частиц,  
полученных осаждением антирастворителем [147]**

1	Давление, $P$	Переход между однофазным и двухфазным массопереносом происходит при $P = P_m$ . Кристаллизация более последовательна, высокоэффективна и обеспечивает менее агрегированные частицы при $P > P_m$ . Наименьший размер частиц может быть получен при давлениях, намного превышающих $P_m$ . Но дальнейшее повышение давления может привести к увеличению размера частиц и появлению частиц игольчатого типа из-за увеличения растворимости в модифицированном $\text{CO}_2$ . Большинство возможных применений требуют давления ниже 20 МПа
2	Температура, $T$	Так же как и давление, температура поддерживает механизм массопереноса при $T = T_m$ . $T < T_m$ соответствует кристаллизации в однородной фазе, способствуя появлению хорошо разделенных частиц. $T > T_m$ может вести к агрегации. При $P < P_m$ увеличение температуры ведет к уменьшению размеров формируемых частиц, так как в капле увеличивается массоперенос. При $P > P_m$ увеличение температуры ведет к увеличению растворимости и формированию больших частиц. Уровень наиболее эффективной температуры находится в диапазоне менее 363 К

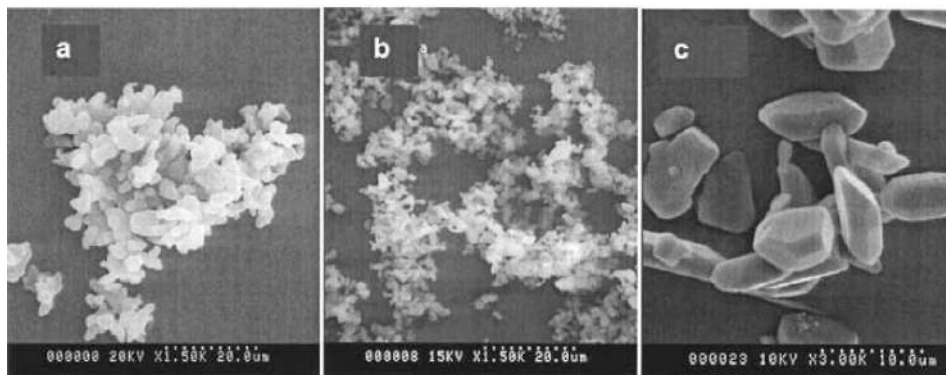
3	Концентрация раствора	Размер частиц предполагается минимальным, потому что увеличение центров кристаллизации и увеличение уровня агрегации происходит только при высоком перенасыщении
4	Скорость потока растворителя	Размер частиц предполагается минимальным, потому что имеется влияние эффектов увеличения концентрации и увеличения растворимости с увеличением скорости потока растворителя
5	Скорость потока сверхкритического флюида CO <sub>2</sub>	Увеличение скорости потока сверхкритического флюида CO <sub>2</sub> обычно ведет к уменьшению размера частиц, так как происходит увеличение перенасыщения и массопереноса. Но слишком высокое соотношение скорости потока сверхкритического флюида CO <sub>2</sub> к скорости потока растворителя уменьшает количество формируемых частиц и может нежелательно отразиться на экономической эффективности всего процесса
6	Плотность потока сопла	Размер формируемых частиц обычно имеет минимальные размеры у потока сопла, так как сочетается комплексный эффект перенасыщения при усиленном массопереносе и увеличивается разбавление потока при более высоких скоростях потока. Для капиллярных сопел обычно имеется эффективное уменьшение размера частиц с увеличением скорости выхода потока из сопла
7	Свойства растворителя	При сочетании фазового поведения ( $P_m$ и $T_m$ ) размеры частиц уменьшаются при воздействии растворителей с низким уровнем насыщения, чем при воздействии растворителей с высоким уровнем насыщения. Более летучие растворители эффективнее влияют на уменьшение размеров частиц, так как способствуют увеличению уровня массопереноса
8	Свойства раствора	Соединения с низким уровнем растворимости в системе сверхкритического флюида CO <sub>2</sub> , модифицированного растворителем, порождают более мелкие частицы, так как их перенасыщение при смешивании очень велико. Соединения с высоким уровнем образования центров кристаллизации и маленьким уровнем роста порождают мелкие частицы. Аморфные или полукристаллические соединения (например, полимеры и белки) могут порождать маленькие и более агрегированные частицы, чем кристаллические соединения, так как могут уменьшать уровень роста

Эти эффекты непосредственно влияют как на поведение максимумов перенасыщения  $S_m$ , как показано в уравнении (51), так и на фазовый перенос в сверхкритической точке  $msr$  между механизмами струйного перемешивания и капельной дисперсии. Из дискуссий в главах 5.2 и 5.5 следует, что наиболее одинаковые частицы могут формироваться при условиях, наиболее приближенных к точке  $msr$  (практически ниже уровня давления  $P_m$ ), где сверхкритические свойства флюида наиболее выражены, локальные величины перенасыщения высоки и постоянные  $c_{eq}$ ,  $\tau_N$  и  $\tau_G$  имеют наименьшее значение.

Рисунок 31а показывает, как производство частиц зависит от критического давления смешения, где происходит более сильная агломерация, чем в от-

дельных и сепарированных кристаллических частицах, полученных при высоком давлении.

Этот эффект можно объяснить зависимостью формирования центров кристаллизации в капельке при  $P < P_m$ . Общий средний размер агломератов формируется меньше с уменьшением среднего размера капельки. Но эксперименты с различными размерами сопла показывают, что средний размер агломератов уменьшается с увеличением числа Рейнольдса у сопла [68]. В противоположном случае, при  $P > P_m$ , следует быстрое смешивание раствора лекарственного вещества и  $\text{CO}_2$  перед осаждением.



**Рис. 31**

Частицы ацетаминофена, полученные ниже (a), вблизи (b) и выше (c) критического давления смеси [147]

Измеренный уровень потока  $\text{CO}_2$ , наиболее приемлемый в первом и во втором случае, гораздо выше уровня потока раствора лекарственного средства; соответственно, агломерация меньше, чем в средах, обогащенных  $\text{CO}_2$ , таким образом подобное смешивание может производить начальные частицы увеличенных размеров, как показано на рисунке 31. «Лучший из двух вариантов» следует перед уровнем  $P_m$ : локальные «горячие точки» концентрации лекарственных средств еще очень высоки, как в капельках, где массоперенос настолько быстр, например, полностью растворимые сольвенты, производящие маленькие, одинаковой формы, неагрегируемые частицы (рис. 31b). Более детальное экспериментальное описание этих феноменов может быть найдено в работах [58, 68].

## ВОПРОСЫ

1. Какой физический смысл имеет высокая равновесная растворимость в сверхкритических флюидах?
2. При каких условиях перенасыщения могут продуцироваться асимметричные или игольчатые частицы?
3. Как различные параметры процесса могут влиять на размер и морфологию образуемых частиц?

## 5.7. ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ИЗМЕРЕНИЯ ДЛЯ ПРОЦЕССОВ ОСАЖДЕНИЯ

Измерения на аппаратуре в химической и фармацевтической промышленности — это основная задача инженеров-технологов и фундаментальный шаг в работе производственных предприятий. Важность производственных процессов в правильном выборе химических и физических процессов для правильного выстраивания технологических процессов предприятия и получения продукции должного качества огромна. Это обозначает, что аппаратура позволяет оперировать по большой индустриальной шкале, возможно по лабораторной шкале. Надо заметить, что изменение шкалы влияет как на процесс массопереноса, переноса импульса, теплопередачи, результирующую концентрацию, стресс и распространение температуры, так и на размерность популяций, представленных в системе (частицы, капли, пузырьки, микроорганизмы).

Чтобы расширить масштабы процесса, можно использовать эмпирический подход: вывести процесс в нескольких масштабах и собрать достаточную информацию для использования принципов подобия, чтобы сделать эмпирическое предсказание производительности системы в большем масштабе (экстраполяция). Этот метод требует нескольких эмпирических этапов масштабирования, включая лабораторные и пилотные эксперименты и экстраполяцию, которая, несмотря на эти исследования, ограничена.

Лабораторная система не должна быть похожа на промышленную установку, но она должна быть разработана таким образом, чтобы предоставить наилучшую информацию. Например, эффекты влияния механики жидкости и процессы массопереноса должны быть хорошо определены или устранены для идентификации кинетики процесса. В случае осаждения антирастворителем, следует определить время образования центров кристаллизации и кинетику роста или, по крайней мере, определить влияние уровня перенасыщения и статистику о размере частиц и морфологии.

Для проверки эффективности в лабораторных масштабах часто используется пилотная установка для тестирования технологии, которая будет затем использоваться в промышленном масштабе. Экстраполяция от лабораторного масштаба до промышленного требует использования принципов подобия, которые могут быть получены с помощью анализа методом размерности. Если даны дифференциальные уравнения, задающие рассматриваемый процесс, анализ методом размерности позволяет определение безразмерных параметров, характеризующих процесс, и помогает дать некоторую физическую интерпретацию этих параметров. Например, из уравнения Навье — Стокса (уравнение (7)), мы можем определить силу инерции  $\rho_0 u_0^2 / L_0$ , силу давления  $\Delta P_0 / L_0$  и силу вязкости  $\mu_0 u_0 / L_0^2$ , где  $L_0$ ,  $u_0$ ,  $\Delta P_0$ ,  $\rho_0$  и  $\mu_0$  являются опорными или собственными значениями. Разделяя значение силы инерции на значение силы вязкости, получаем число Рейнольдса,  $Re = u_0 L_0 \rho_0 / \mu_0$ , как критерий подобия для потока. Это означает, что два потока в геометрически аналогичных системах I и II шкалы,  $L_{0I}$  и  $L_{0II}$  соответственно, имеют аналогичные структуры потока, т. е.

$$\frac{u_{jI}(x_1/L_{0I}, x_2/L_{0I}, x_3/L_{0I})}{u_{0I}} = \frac{u_{jII}(x_1/L_{0II}, x_2/L_{0II}, x_3/L_{0II})}{u_{0II}},$$

если выражение  $Re_I = u_{0I}L_{0I}\rho_{0I}/u_{0I}$  эквивалентно выражению  $Re_{II} = u_{0II}L_{0II}\rho_{0II}/u_{0II}$ . Таким образом, эти системы считаются динамически подобными.

Аналогично, мы можем использовать уравнение (65), чтобы определить постоянную времени конвекции  $L_0/u_0$ , постоянные времени для молекулярной и турбулентной диффузии  $L_0^2/D_{m0}$  и  $L_0^2/D_{T0}$  соответственно, константу времени роста частиц  $c_{c0}M_c/\rho_p k_a m_2 G$ . Соотношение диффузии и времени конвекции определяет числа Пекле  $Pe = u_0 L_0 / D_{m0}$  и  $Pe = u_0 L_0 / D_{T0}$  для молекулярного и турбулентного диффузионного смешивания соответственно.

Определение подобных чисел Пекле в системах разных масштабов дает аналогичную концентрацию, если нет химической реакции, равно как и осадков. В случае осаждения также соотношение постоянной времени роста кристаллов и постоянной времени конвекции должно быть одинаковым в системах, отличающихся по размерной шкале. Нужно определить больше таких шкал, используя весь баланс уравнения (шкала времени для формирования центров кристаллизации из уравнения (52), временные шкалы для микросмешивания из уравнения (14), а также временные масштабы переноса энергии и генерации энергии из уравнения (16)) и использовать их соотношения для определения более безразмерных критериев подобия.

Когда нет доступных дифференциальных уравнений, вместо этого можно использовать пи-теорему Бакингема. Эта теорема утверждает, что любая полная физическая связь (описывающая процесс) может быть выражена в наборе терминов независимых безразмерных групп, как обсуждалось ранее, и что число безразмерных групп, которые использовались для описания процесса с участием  $n$  переменных, задаются формулой

$$i = n - r, \quad (75)$$

где  $r$  — число фундаментальных измерений (например, масса, длина, время), которые появляются в каждой из задействованных переменных.

Конечно, пи-теорема не подсказывает, как выбрать значимые переменные; в зависимости от выбранных переменных могут быть получены различные критерии подобия. Правильный выбор переменных во многом зависит от личных знаний, опыта и интуиции выбрать то, что нужно в данном случае.

В геометрически подобных системах существует полное сходство, если все необходимые безразмерные критерии, полученные либо из дифференциальных уравнений, либо используя пи-теорему, равны. В сложных процессах осаждения такое полное сходство невозможно. Более того, поскольку мы хотим получить идентичные не похожие продукты из систем, различающихся по шкале, мы обычно хотим воспроизводить качество продукта (размер частиц, морфологию частиц), смесь состава и структуру суспензии в большем масштабе. Таким образом, мы используем ограниченное сходство, что означает, что мы теряем несколько степеней свободы (невозможно манипулировать размером

частиц, составом раствора, вязкостью и диффузией одновременно) и получаем таким образом уменьшенное число критериев подобия.

Более фундаментальный подход к масштабированию основан на моделировании с помощью прогнозирования конечного эффекта и подробного понимания процесса в достаточном объеме. «Подход моделирования» здесь означает представление нашей системы производства частиц с помощью набора уравнений. С этой целью можно использовать эмпирические модели, механистические модели, полуэмпирические модели и расчетную газогидродинамику CFD (computer fluid dynamics). В случае чисто эмпирических моделей, основанных на подгонке экспериментальных данных, выбирают форму уравнений (полиномы, нейронные сети и т. д.) для представления того, как выбранные зависимые переменные (например, размер частиц) зависят от таких независимых переменных, как концентрация, температура, давление и скорость сопла.

Такой подход не рекомендуется, поскольку такие модели могут делать ошибочные предсказания вне экспериментальной области (т. е. в системе большего масштаба).

Рекомендуемый подход к моделированию — это создание моделей, основанных на фундаментальных балансах (массы, состояния, энергии, популяции) и основной кинетики, и использование их для построения полной модели осаждающего вещества, как показано в предыдущих разделах. Такой набор уравнений известен как физическая или механистическая модель. Сложные физические модели трудно создавать и решать, потому что они требуют идентификации заранее всех физических и химических подчиненных процессов, свойств и параметров. Вот почему полуэмпирические модели аналогичны полным физическим моделям (но обычно проще) и часто используются для масштабирования с меньшим количеством уравнений. Параметры таких моделей часто в приведенной форме, некоторые из них соответствуют имеющимся экспериментальным данным, полученным из системы более мелкого масштаба. Такие модели могут быть полезны для масштабирования, но нельзя быть уверенным, что масштабирование будет полностью правильным, потому что нет гарантии, что модель содержит полный механизм воздействия.

В целом, ошибки масштабирования должны быть меньше, чем в случае чисто эмпирических моделей. CFD-коды, основанные на разумных упрощениях (решениях) относительно их точности, могут быть помещены между физическими и полуэмпирическими моделями.

Наконец, есть эмпирические, консервативные критерии увеличения масштаба такие как удерживание постоянными во время увеличения масштаба приложенной силы на единицу массы (или объема), коэффициенты теплопереноса и массопереноса, скорость жидкости у сопла или время продолжительности воздействия. Эти критерии часто противоречат друг другу и должны использоваться с осторожностью.

Рекомендуется следующая стратегия увеличения масштаба: перед рассмотрением моделирования процесса или эмпирического исследования для увеличения масштаба нужно сделать анализ констант времени. Здесь важно знать, как определить и использовать константы времени, поскольку их сравне-



ние может показать подчиненные процессы, которые менее важны в крупном масштабе, соответственно, которыми можно пренебречь или, наоборот, нельзя пренебрегать. Для этого анализа можно использовать примерные оценки свойств предлагаемой среды и кинетики процесса. Можно использовать этот анализ, чтобы создать один или несколько растворов для увеличенной в масштабе системы и затем использовать полуэмпирическую модель, чтобы выбрать один из предложенных растворов и проверить тенденции изменения самых важных переменных с увеличением масштаба.

Полуэмпирическое моделирование может быть поддержано на данном этапе CFD (computer fluid dynamics), чтобы смоделировать такие гидродинамические модели, как образец потока, локальную концентрацию и прилагаемую мощность воздействия, так же хорошо, как и в экспериментах с увеличенным масштабом. Если возможно, то вместо полуэмпирической модели должна быть применена физическая модель, использующая CFD, для увеличения точности расчетных данных влияния увеличения масштаба и, наконец, для оптимизации процесса.

Эта глава, главным образом, рассматривает смешивание и осаждение в потоке. Поэтому мы иллюстрируем некоторые общие принципы увеличения масштаба, рассматривая увеличение масштаба сопла на основе комбинирования констант времени для смешивания ( $\tau_M$ ), образования ядра ( $\tau_N$ ) и роста ( $\tau_G$ ), как определено в разделе 5.5. Можно классифицировать осадочные подпроцессы с точки зрения их конкуренции со смешиванием. Образование центра кристаллизации мгновенно  $\tau_M \gg \tau_N$ , быстро, если  $\tau_M \approx \tau_N$ , и медленно, если  $\tau_M \ll \tau_N$ .

Эффект смешивания должен наблюдаться в первых двух случаях. Соответственно, подпроцессы смешивания [58], которые задействуют осадочные процессы, должны быть рассмотрены при расширении шкалы, предшествующие критерии полезны для нивелирования подпроцессов смешивания. Когда образование центра кристаллизации происходит мгновенно (образование гомогенных центров кристаллизации обычно), это отразится почти на всех подпроцессах смешивания. Подходящий уровень скоростей в рассматриваемой системе — скорость струи  $u_0$ , подходящий размер расстояний — диаметр сопла струи  $d_0$ . Другие размеры (например, диаметр и длина емкости) пропорциональны  $d_0$  в геометрически подобных системах.

Следовательно, время существования струйных элементов флюида по оси  $X$  измеряется постоянной времени конвекции  $\tau_C = d_0/u_0$ .

Поэтому по графику изменения процесса во времени  $t/\tau_C = f(x/d_0)$  у составных частей флюида есть те же самые бесконечно малые величины  $x/d_0$  после бесконечно малых периодов времени  $t/\tau_C$ . Соответственно, стабилизация одинаковых величин среднего времени существования в обеих системах эквивалентна стабилизации такой же величины  $\tau_C$ . Уровень диссипации энергии,  $\epsilon$ , появляется во многих уравнениях, описывающих и струйное перемешивание, и капельную дисперсию. Обычно уровень диссипации энергии определяется как  $\epsilon \propto u_0^3/d_0$ ; это обозначает, что в тех же самых точках в безразмерном пространстве соотношение  $\epsilon_1/\epsilon_2$  остается тем же самым. В идеале, увеличение масштаба

процесса требует ту же самую величину  $\varepsilon$  динамики изменений процессов во времени для струйных элементов жидкости. (Тогда те же самые параметры процесса «замечают» струйные элементы жидкости после тех же самых периодов времени в обеих системах.)

К сожалению, это приводит к противоречащим требованиям:

$$\left(\frac{d_0}{u_0}\right)_1 = \left(\frac{d_0}{u_0}\right)_2 \quad (76)$$

и

$$\left(\frac{u_0^3}{u_0}\right)_1 = \left(\frac{u_0^3}{u_0}\right)_2. \quad (77)$$

Таким образом, масштабирование, при котором струйные элементы испытывают одинаковый уровень энергии диссипации в обеих системах в одно и то же физическое время (или на одинаковом этапе существования), невозможно. Поэтому необходимо учитывать следующие компромиссы.

1. Определение одинакового уровня энергии диссипации, уравнение (77). Выразим параметр  $X$ :

$$\frac{Q_2}{Q_1} = \frac{u_{02}d_{02}^2}{u_{01}d_{01}^2} = X, \quad (78)$$

который представляет собой соотношение между скоростями потока  $Q_1$  и  $Q_2$  по разной шкале.

Из уравнений (76) и (77) имеем:

$$\left(\frac{u_{02}}{u_{01}}\right) = X^{1/7} \quad (79)$$

и

$$\left(\frac{d_{02}}{d_{01}}\right) = X^{3/7}. \quad (80)$$

Это дает значительное увеличение диаметра сопла и реально маленькое увеличение сопловой скорости. Как результат, время конвекции значительно увеличивается:

$$\tau_{c2} = \tau_{c1}X^{2/7}. \quad (81)$$

Таким образом, струйные элементы попадают в одни и те же траектории и испытывают одинаковые величины  $\varepsilon$ , но перемещаются в  $X^{2/7}$  раз медленнее в безразмерном пространстве. Этот критерий может быть идентифицирован, например, с тем же максимально стабильным размером капли в обеих системах, одинаковыми коэффициентами обмена для объектов того же размера в одинаковых бесконечно малых величинах, одинаковых параметров смешивания и т. д. Однако, это означает, что смешивание, формирование центров кристаллизации и рост кристаллов происходят при различных значениях  $\varepsilon$ , когда процессы происходят быстро. В качестве примера для времени формирования цен-

тров кристаллизации  $\tau_N$  (или, точнее, формирования расстояния между центрами кристаллизации,  $\tau_{Nu_0}$ ), уравнения (79) и (80) показывают, что в системе бóльшего масштаба расстояние формирования центров кристаллизации в  $X^{1/7}$  раз больше, тогда как профиль  $\epsilon$  «удлинен» в  $X^{3/7}$  раз. Это масштабирование должно использоваться для медленных или «простых» процессов, таких как распад капель по механизму Колмогорова в уравнении (36), когда фактор времени не важен, а важен только окончательный результат. Когда фактор времени имеет значение (химическая реакция, кристаллизация или даже образование капель), этот метод не подходит. Для примера, применение мультифрактального механизма [30, 31, 69] для асимптотически устойчивых капель при  $\alpha = 0,12$  приводит к результирующему  $d_{\max} \propto \epsilon^{-0,617} d_0^{-0,54}$ . Поэтому для одинаковых  $\epsilon$  размер капелек меньше в системе бóльшего масштаба. Этот пример также иллюстрирует важность определения механизма модели, что может приводить к различным критериям масштабирования.

2. Требование одной и той же динамики изменений в уравнении (76) приводит к следующим отношениям:

$$\left( \frac{u_{02}}{u_{01}} \right) = X^{1/3} \quad (82)$$

и

$$\left( \frac{d_{02}}{d_{01}} \right) = X^{1/3}. \quad (83)$$

Это дает одинаковое увеличение диаметра сопла и скорости сопла, потому что уровень энергии диссипации измеряется как  $\epsilon \propto u_0^3 / d_0$ . Мы определяем  $\epsilon_2 = \epsilon_1 X^{2/3}$ . Это обозначает, что уровень энергии диссипации значительно увеличивается при пропорциональном увеличении. В обеих системах струйные элементы проходят одинаковый путь с одинаковой скоростью в безразмерном пространстве. В физической области они будут достигать максимума  $\epsilon$  в том же самом периоде времени, но уровень  $\epsilon$  везде будет выше в  $X^{2/3}$  раз. Значение энергии увеличивается в крупномасштабной системе, таким образом, когда энергия не может быть меньше определенного значения (например, при агрегации, эмульгировании), мы имеем устойчивое решение, поскольку чувствительные к сдвигу материалы, например белки, не являются хорошими кандидатами для отбора по этому критерию.

3. Это обозначает

$$\left( \frac{u_0^3}{d_0} \right)_1 = \left( \frac{u_0^3}{d_0} \right)_2 \quad (84)$$

и

$$\frac{u_{02}}{u_{01}} = X^{1/5}; \quad (85)$$

$$\frac{d_{02}}{d_{01}} = X^{2/5}. \quad (86)$$

Таким образом  $\varepsilon_2 = \varepsilon_1 X^{1/5}$  и  $(d_2/u_0^2)/(d_1/u_0^1) = X^{1/5}$  — это реальный компромисс между сходством во времени и сходством в энергии.

## 5.8. ВЫВОДЫ

Основной вклад данной главы — это описание механизма формирования частиц под воздействием осаждения сверхкритическим флюидным антирастворителем в струе. В этом случае динамика процесса может быть описана с помощью должных математических моделей. Нашей целью было показать, что различные аспекты процесса, такие как термодинамика, динамика флюидов и кинетика осаждения, комплементарны и могут улучшать процесс, действуя совместно. Дополняют созданную картину много экспериментальных и теоретических работ.

Более того, осаждение антирастворителем с сверхкритическим флюидом не может быть представлено с помощью единственной модели и предполагает отдельные подходы для условий перед и после критической точки (*mcp*) со специфичностью поведения массопереноса и теплопередачи в критической точке (*mcp*). Наибольший потенциал сверхкритических флюидов в химико-технологической и фармацевтической промышленности предполагает уникальные термодинамические свойства сверхкритических растворителей вблизи критической точки *mcp*. Этот потенциал применим, несмотря на недостаток экспериментальных знаний о коэффициентах массопереноса, теплопередачи и кинетики осаждения и соответствия материальным константам.

Различия между хорошо известными техниками сверхкритического флюидного антирастворителя, такими как GAS (Gas Anti-Solvent), PCA (Precipitation with Compressed Anti-solvent), осаждение при помощи сжатого антирастворителя и SEDS (Solution Enhanced Dispersion by SCF) — методе диспергирования растворов, стимулированном с помощью сверхкритических флюидов, обычно могут быть привязаны к технике специфического соплового перемешивания (или диспергирования). Влияние массопереноса и теплопередачи может быть использовано в механическом и ультразвуковом перемешивании, технике сверхбыстрого расширения потока. Появляются новые исследования и разработки по формированию частиц с помощью дисперсных систем, таких как эмульсии, мицеллы, коллоиды и полимерные матрицы. Надо отдельно подчеркнуть, что все эти процессы сопряжены с одинаковыми фундаментальными аспектами феноменов массо- и теплопереноса между сверхкритическим флюидом и подкритической фазой. Главнейшая цель всех технологий формирования частиц с помощью сверхкритических флюидов — это добиться получения предсказуемой, соответствующей и экономичной продукции с прекрасными фармацевтическими или химическими свойствами. Это возможно осуществить, только основываясь на всеобъемлющем понимании механизмов химических реакций и хорошо изученных физических принципах расширения.

## **6. СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ CO<sub>2</sub>-ЭКСТРАКЦИЯ ИЗ НАТУРАЛЬНЫХ МАТРИЦ РАСТЕНИЙ**

Фармацевтические исследования натуральных продуктов — одно из самых интересных и активных исследований в области сверхкритики. Клинические тесты бесспорно указали, что натуральные матрицы растений действительно содержат фармакологически активные компоненты, которые являются эффективными для применения в лечении некоторых тяжелых болезней. Например, таксол, дитерпеноид, выделенный из коры тихоокеанского тиса, показал многообещающие результаты для лечения рака груди, рака легких и рака кожи.

Фармакологически активные соединения в натуральных матрицах растений обычно находятся в низких концентрациях, много исследований было проведено для развития более эффективных экстракционных методов для восстановления этих соединений из натурального сырья. Для обычных методов экстракции, таких как гидродистилляция (паровая дистилляция) и жидкостная экстракция, есть немного возможностей, чтобы управлять селективностью процесса экстракции. Поэтому развитие альтернативных методов экстракции с лучшей селективностью и эффективностью очень желательна. Сверхкритическая флюидная экстракция (SFE), как экологически безопасная и эффективная экстракционная техника для твердых растительных матриц, была внедрена и активно изучается для применения в сепарации и выделении активных компонентов из растений.

О демонстрации технологии SFE для промышленного применения сообщил Zosel в Институте Макса Планка в 1969 г. В последние годы технология SFE получила много внимания как имеющая большой потенциал в аналитическом применении. Сверхкритическая флюидная экстракция натуральных продуктов из растительных матриц стал одной из важных прикладных областей. Ниже будет представлен практический обзор развития в области SFE и будут обсуждены интересные результаты исследований, полученные в прошлое десятилетие.

## 6.1. ГЛАВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА ТЕХНИКИ SFE

Поскольку SFE обладает несколькими отличными свойствами, она рассматривается как многообещающая альтернативная техника по сравнению с обычными методами жидкостной экстракции.

1. Сверхкритические флюиды обладают относительно более низкой вязкостью и повышенной диффузивностью (диффузивность для сверхкритических флюидов равняется  $\sim 10^{-4}$  см<sup>2</sup>/площадь, для жидких растворителей —  $\sim 10^{-5}$  см<sup>2</sup>/площадь). Поэтому сверхкритические флюиды могут проникать в пористые твердые материалы эффективнее, чем жидкие растворители, и, следовательно, обладают намного более быстрой массопередачей, приводящей к более эффективным экстракциям. Например, экстракционное время может быть уменьшено с сопоставимым или лучшим восстановлением с часов или даже дней в жидкостной экстракции (твердое тело — жидкость) в некоторых случаях до десятков минут в SFE.

2. В SFE поступающий флюид непрерывно должен течь через экстрагируемый образец; именно это может обеспечить наиболее количественное или полное экстрагирование.

3. В SFE силой сольватации жидкости можно управлять изменением давления ( $P$ ) и/или температуры ( $T$ ); поэтому можно достигнуть удивительно высокой селективности. Эта настраиваемая сила сольватации сверхкритических жидкостей особенно полезна для извлечения из образцов сложных соединений, например из растительных матриц. Один хороший пример — селективная экстракция компонента виндолина из более чем 100 алкалоидов из листьев барвинка розового *Catharanthus roseus*.

4. Твердые вещества, растворяющиеся в сверхкритическом CO<sub>2</sub>, могут быть легко сепарированы разгерметизацией. Поэтому SFE может исключить процесс концентрации образца, который обычно занимает много времени и часто приводит к потере летучих компонентов.

5. SFE обычно выполняется при низких температурах, это идеальная техника для изучения термически лабильных соединений и может привести к открытию новых природных соединений. Например, когда SFE использовали для экстракции имбиря, многие нежелательные реакции, такие как гидролиз, окисление, деградация и перегруппировка, могут быть эффективно предотвращены. Следовательно, общих трудностей для оценки качества в классической гидродистилляции можно избежать, используя технологию SFE.

6. По сравнению с 20–100 г образцов, обычно требующихся в методах жидкостной экстракции, в SFE-методах необходимы всего лишь 0,5–1,5 г образцов. Сообщалось, что только с 1,5 г свежих образцов растений могут быть экстрагированы и определены с помощью газовой хроматографии (GC) — масс-спектропии (MS) более 100 летучих и труднолетучих соединений, из которых более 80 соединений были в достаточном количестве для точного количественного анализа.

7. SFE не использует или использует в очень небольших количествах менее экологически чистые органические растворители. В методе SFE может не

понадобиться или возможно применение нескольких миллилитров органического растворителя, в то время как типичный метод жидкой экстракции потребовал бы от десятков до сотни миллилитров.

8. В методе SFE можно установить прямую связь с хроматографическим методом, что позволяет одновременно экстрагирование и непосредственное количественное определение высоколетучих соединений.

9. В крупномасштабных процессах SFE флюид, обычно  $\text{CO}_2$ , может быть переработан или повторно использован, что сводит к минимуму производство отходов.

10. SFE может применяться к системам с разной шкалой, например от аналитической шкалы (менее грамма до нескольких граммов образцов), препаративной шкалы (несколько сотен граммов образцов), экспериментальной шкалы (килограммы образцов) и до крупных промышленных партий (тонны сырья, например SFE бобов кофе).

В дополнение к преимуществам, упомянутым выше, еще одно отличное преимущество SFE по сравнению с обычными методами то, что сверхкритическая экстракция может предоставить больше информации, относящейся к процессам и механизмам экстракции. Можно использовать такую информацию для количественной оценки или оценивать экстракцию по эффективности, а затем оптимизировать процесс соответственно. Более подробно этот процесс будет рассмотрен ниже.

## ВОПРОСЫ

1. Назовите преимущества сверхкритической экстракции.
2. При каких температурах происходит сверхкритическая экстракция, в отличие от остальных методов экстракции?
3. Каков минимальный объем образцов для получения результата может закладываться в аппарат сверхкритической экстракции?

## 6.2. ФЛЮИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И МОДИФИКАТОРЫ

Из всех изученных газов и жидкостей  $\text{CO}_2$  остается наиболее часто используемой жидкостью для SFE из-за низких критических постоянных ( $T_c = 31,1^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 72,8$  атм), нетоксичности, невоспламеняемости и возможности получить высокую чистоту при низкой стоимости процесса. Сверхкритический  $\text{CO}_2$  имеет хорошие свойства растворителя для экстракции неполярных соединений, например углеводородов, тогда как значительный квадрупольный момент также позволяет ему растворять некоторые умеренно полярные соединения, например спирты, сложные эфиры, альдегиды и кетоны.

Для извлечения полярных соединений должны быть рассмотрены полярные сверхкритические материалы. Два таких соединения, которые были успешно использованы для сверхкритической экстракции полярных соединений из образцов растений, — это фреон-22 (хлордифторметан) и оксид азота ( $\text{N}_2\text{O}$ ).

Первый использовался для экстракции свободных карбоновых кислот и соединений стероидов, тогда как последний для экстракции таксола. Однако их применение ограничено из-за их небезопасности и экологических соображений. Оксид азота может вызвать взрыв, а фреон-22 больше не поступает в продажу из-за истощения озонового слоя в верхних слоях атмосферы.

О применении воды как соединения для сверхкритического флюида сообщают Бролл и др., вода, в основном, используется в качестве реакционной среды (Bruol et al., 1999) [70]. Перегретая вода (вода под давлением с температурой выше 100°C, но ниже  $T_c = 374^\circ\text{C}$ ) может быть использована для экстракции растительных матриц. Хотя перегретая вода имеет определенные преимущества, например более высокую экстракционную способность для полярных соединений, она не подходит для термически лабильных соединений. Если кислород не был тщательно очищен, вода при высокой температуре становится коррозионной и может привести к повреждению экстракционных сосудов.

Вероятно, применение модификаторов (или, другими словами, со-растворителей) — простейший, но самый эффективный способ получить желаемую полярность жидкостей на основе  $\text{CO}_2$ . Выбрав модификатор или просто изменив молярное соотношение модификатора, можно легко манипулировать свойствами жидкостей. Обычно добавление небольшого количества модификатора в жидкость может значительно усиливать эффективность экстракции и, следовательно, сокращать время экстракции. Например, для экстрагирования эфирных масел из ароматических растений добавление всего 0,5 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  к 500 мг образца в капсуле SFE будет уменьшать время экстрагирования с 90 до 30 мин, и эффективность данной экстракции соответствовала гидродистилляции, полученной в течение 4 ч.

В применении к процессу сверхкритической экстракции натуральных продуктов изучено не менее 17 модификаторов (Modey et al.) [71]. Метанол является наиболее часто используемым из всех модификаторов, поскольку это эффективный полярный модификатор и может составлять в процентах до 20% смеси со сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Считалось, что высокое процентное содержание метанола может нарушить сцепление между растворами и растительными матрицами. Этиловый спирт, имеющий меньшую полярность, чем метанол, может быть наилучшим выбором для сверхкритической экстракции натуральных продуктов, так как менее токсичен. Опубликовано несколько работ об успешном использовании этанола в качестве модификатора в SFE разнообразных органических соединений из растительных матриц. Интересным было то, что этанол был более эффективным модификатором для SFE линурона, в то время как метанол был лучше для SFE диурона из растительных материалов.

В зависимости от свойств образцов и получения желаемых соединений, лучший модификатор обычно может быть определен на основе предварительных экспериментальных результатов. Например, в SFE фенольной кислоты метанол был гораздо более эффективным модификатором, чем ацетонитрил, ацетон, вода или дихлорметан. В SFE паклитаксела и баккатина III из модификаторов: метанола, этилацетата, дихлорметана и диэтилового эфира дихлорметан был наиболее эффективным для паклитаксела, а диэтиловый эфир был лучшим



для баккатина III. В другой научной статье 4% метанола или хлороформ не привели к восстановлению сантонина (сесквитерпенового лактона), но 4% ацетонитрила может увеличить восстановление с 38 до 85%, тогда как насыщенный водой CO<sub>2</sub> генерировал дальнейшее увеличение восстановления до 92% (Smith et al.) [72].

Путем перебора между типами и соотношениями объема модификаторов можно получить различные экстракционные результаты. Например, поэтапный процесс был использован в сверхкритической экстракции лимонной травы (Sargenti et al.) [102]. Сначала экстракцию проводили с 10 и 30% гексана, затем следующий шаг с 10 и 20% ацетона и, наконец, с 10% метанола. Экстракционный результат с CO<sub>2</sub>, модифицированным 10% гексаном был аналогичен тому, который был получен при паровой экстракции, а результат с 30% гексана был аналогичен полученному при Сокслет-экстракции в гексане. CO<sub>2</sub>, модифицированный ацетоном, может экстрагировать дополнительные соединения, а CO<sub>2</sub>, модифицированный 10% метанолом, был неселективен.

Палма и др. использовали в SFE активные фенольные соединения для исследования в семенах винограда (Palma et al.) [73]. Они получили первую фракцию с чистым CO<sub>2</sub>, содержащую жирные кислоты, алифатические альдегиды и стеролы, которые имели высокую степень антиоксидантной активности. С модифицированным 20% метанолом CO<sub>2</sub> они экстрагировали вторую фракцию, которая в основном включала эпикатехин и галловую кислоту, которые более агрохимически активны. Так как SFE позволяет экстрагировать соединения без воздействия света и воздуха, они обнаружили, что антиокислительные свойства экстрактов могут быть сохранены безопасным способом.

Хотя влажность свежих растительных материалов обычно нежелательна, поскольку это может вызвать препятствие в решении проблемы, в некоторых случаях это может быть преимуществом, так как вода может служить модификатором для SFE некоторых соединений. Например, при SFE пестицидов из корней солодки *Glycyrrhizae radix* или других лекарственных трав Линг и др. обнаружили, что 10% влаги было достаточно для увеличения растворяющей способности смеси флюида до максимума (Ling et al.) [74].

Миячи и др. также использовали воду в качестве модификатора для экстракции лигнана (1-гидроксипинорезинола) из ясеня *Fraxinus japonica* и других видов *Fraxinus* (Miyachi et al.) [75].

Смесь метанола и воды также может быть используема в качестве модификатора. В SFE флавоноидов (байкалин, байкалеин и вогонин) из корней шлемника *Scutellaria radix*, Лин и др. отметили, что при экстракции 1 г образца добавление 3 мл 70% метанола (метанол : вода, 70 : 30) в 20 мл CO<sub>2</sub> давало намного лучший результат, чем чистый метанол. Этот момент можно объяснить тем, что 30% добавленной воды дополнительно увеличивают полярность модификатора, следовательно, полярные составляющие будут экстрагированы лучше (Lin et al.) [76]. Джаникот и др. также экстрагировали тебаин, кодеин и морфин, используя смесь CO<sub>2</sub> — метанол — вода (70 : 24 : 6 w : w, соответственно) как модификатор (Janicot et al.) [77].

Существует три общих способа введения жидкого модификатора в систему SFE: 1) использование второго насоса; 2) использование предварительно перемешанных жидкостей из емкости; 3) прямое дозированное впрыскивание. По сравнению с другими двумя методами, прямое впрыскивание жидкого модификатора в емкость SFE является самым простым и наиболее экономичным методом. Этот метод также создает меньше механических проблем и проблем с воспроизводимостью или сходимостью результатов. Однако при использовании метода впрыскивания нужно быть очень осторожным и убедиться, что бинарная жидкость действительно находится в сверхкритическом состоянии. Еще одной распространенной проблемой для метода впрыскивания является то, что большая часть модификатора может быть вымыта из емкости для образцов в самом начале шага динамической экстракции, что приведет к несогласованным результатам и, следовательно, потребует повторных экспериментов.

Когда используется жидкий модификатор, статическая экстракция, как правило, необходима, так как это позволяет растворителю модифицировать образец анализируемой матрицы. В зависимости от состава образца и концентрации растворенного вещества, подходящее время статической экстракции может значительно варьироваться от раза к разу. Например, для экстракции  $\beta$ -каротина из кукурузы требуется 20-минутная статическая экстракция. Тем не менее, если проводится такая же экстракция с зелеными листьями овощей, будет гораздо меньше 10 мин (Marsili et al.) [78]. Однако, при SFE жирных кислот и стеролов из ткани растений, статическая экстракция в течение 5–10 мин не привела к какой-либо усиленной экстрагированию. Аналогично, при использовании  $\text{CO}_2$ , модифицированного метанолом, для экстракции микелламина А и В статический период с 5 до 60 мин не привел к улучшенной экстракции, которая считалась бы признаком того, что такая экстракция не приводилась в действие кинетически; следовательно, период статической экстракции не нужен (Ashraf-Khorassani, Taylor et al.) [79].

Чтобы понять механизм действия модификатора, должны учитываться взаимодействия растворитель — модификатор. Такие взаимодействия включают диполь-дипольное взаимодействие, взаимодействие диполь — индуцированный диполь, водородную связь, а также другие силы полярности. Для прогнозирования усиления на безматричной основе силы притяжения и силы отталкивания были смоделированы в условиях конкретных взаимодействий, используя уравнение состояния Пенг — Робинсона с зависящим от влияния собственного объема правила смешивания.

Одним из недостатков использования модификатора является то, что он может иметь слабую селективность, т. е. усиливает экстракцию примесных соединений, например хлорофиллы и воскообразные соединения могут быть экстрагированы вместе с целевыми соединениями. Если концентрация модификатора неправильно выбрана, может быть более низкое восстановление, вероятно из-за повышенного уровня жидкого модификатора в растворителе, что имеет негативное влияние на эффективность захвата целевых соединений. Фактически не во всех процессах SFE, необходимы и полезны модификаторы. Например, Ашраф-Хорассани и др. [80] использовали чистый  $\text{CO}_2$  для экстракции се-

ми соединений кава-лактонов из корней кавы, выход составлял  $> 90\%$ , полученных методом водной экстракции, при добавлении 15% этанола результат экстракции не имел значительного улучшения (Ashraf-Khorassani et al.) [80]. Сообщалось также, что даже тритерпены могут быть экстрагированы под мягкими SFE экстракционными условиями без модификатора. В некоторых других случаях модификатор дает лишь небольшое улучшение экстракции.

## ВОПРОСЫ

1. Какое воздействие имеют модификаторы на применение в методе сверхкритической экстракции?
2. Назовите три способа введения модификатора в систему SFE.
3. Какие взаимодействия должны учитываться в системе растворитель — модификатор?

## 6.3. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

В SFE натуральных продуктов часто используются свежие растительные материалы, если желаемые экстрагируемые соединения являются летучими или лабильными. Когда свежий образец экстрагируется, высокое содержание влаги может вызвать механические трудности, например закупорку обратного клапана из-за образования льда. Один простой, но эффективный способ избежать таких проблем: следует смешивать образец с безводным сульфатом натрия  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  может улучшать результаты SFE, так как он может:

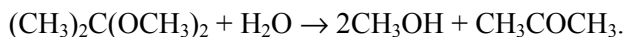
- 1) обеспечить лучший контакт между сверхкритическим флюидом и образцами;
- 2) уменьшить влияние недействующего объема;
- 3) эффективно удерживать влагу.

Другие исследователи считают, что силикагель представляет собой лучший выбор для удерживания влаги при сверхкритической экстракции свежих образцов. Улучшение результатов SFE также наблюдалось, когда свежие образцы имбиря были смешаны с крупным гранулированным целитом (ячейка сетки 30–60) перед загрузкой образцов в SFE-емкость для экстракции (Bartley et al.) [81].

Как сообщил Лехотай, 0,3%-ный раствор воды в сверхкритическом  $\text{CO}_2$  может играть важную роль в экстракции (S. J. Lehotay) [82]. Если избыток влаги оставался в экстракционном сосуде, хорошо растворимые в воде компоненты могут повышать разделение в водной фазе, и, следовательно, SFE восстановление было бы низким. Матрица, использующая гранулированную диатомовую землю (гидравлическую добавку), — это другой тип осушителя для поглощения воды в SFE.

Уэзерс и др. использовали ацетали, например: 2,2-диметоксипропан (DMP) в качестве модификатора для удаления воды из образцов паприки и увеличения выхода  $\beta$ -каротина при SFE (Weathers et al.) [83].

Реакция DMP с водой:



После добавления 500 мл DMP к образцу в емкость при SFE-экстракции эффективность экстракции  $\beta$ -каротина из влажной паприки увеличилась в 2,5 раза и из сухой паприки — в 1,5 раза. Это свидетельствует о том, что DMP может действовать как «сушащий реагент» и модификатор. Иногда высушенные растения могут быть предпочтительнее для SFE. Процедура сушки растительного материала может повлиять на урожайность и качество экстрактов.

Эбанос и др. исследовали три метода сушки для розмарина, включающие 1) лиофилизацию; 2) сушку в печи при 45°C до достижения постоянной массы; 3) вакуумное роторное испарение при 35°C до достижения постоянной массы. При использовании сублимационной сушки было установлено, что она обеспечивает наибольшее количество эфирного масла розмарина, за которой по эффективности следует сушка в печи при 45°C и вакуумное ротационное выпаривание (Ibanez et al.) [84].

Однако есть методы, основанные на антиоксидантной активности, сушке при комнатной температуре и в вентилируемом месте, обеспечивающие лучшие результаты.

Размер частиц образца является критическим фактором успешности для процесса SFE. Большие частицы могут давать результат при длительной экстракции, поскольку процесс может стать диффузионно контролируемым. Хорошим примером является SFE листьев базилика. Если размер частиц образца составлял 0,55 мм, 5 ч — недостаточно для достижения удовлетворительной экстракции. Если образец измельчали до величины 0,17 мм частиц, 2 ч было достаточно для завершения экстракции. Измельчение образца в мелкий порошок может ускорить экстракцию и повысить эффективность, но этот момент может также увеличить расход сверхкритического флюида, протекающего в единицу времени. Эффективный способ преодолеть проблему излишнего расхода флюида — это поместить в экстракционную камеру вместе с экстрагируемым образцом стеклянные шарики или другие твердые инертные материалы, например морской песок. Эти жесткие частицы помогут предотвращать прессование образцов в твердые непроницаемые для жидкости пробки и, следовательно, поддерживать желаемую доступность сверхкритической экстракции к матрице образца. Также полезен металлический фильтр, установленный в конце входной стороны емкости SFE, который помогает избегать неравномерного распределения потока жидкости в слое.

В зависимости от распределения целевых соединений в матрице образца, процесс SFE может резко сократиться после того, как большинство соединений удаляются с поверхности матрицы в начале экстракции. Это происходит потому, что оставшиеся растворенные вещества удерживаются внутри структуры частиц образца и могут быть экстрагируемы только в течение длительного времени. Например, удаление 99% конкретного соединения может потребовать времени экстракции в десять раз больше, по сравнению со временем экстрак-

ции первых 50% соединения. Следовательно, использование длительного времени экстракции, чтобы получить немного более высокое восстановление, может быть экономически невыгодным.

## ВОПРОСЫ

1. Как безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  может улучшать результаты SFE?
2. Как размер частиц экстрагируемого вещества влияет на результат экстракции?
3. Какой эффективный способ преодолеть излишний расход сверхкритического флюида?

## 6.4. ЭКСТРАКЦИОННЫЕ УСЛОВИЯ

Для успешного применения SFE необходимо рассмотреть несколько факторов до начала экстракции. Эти факторы включают тип образца, метод подготовки проб, тип жидкости, выбор модификатора, способ подачи жидкости и экстракционные условия, включая давление, температуру, скорость потока жидкости и время экстракции.

В большинстве случаев экстракции растений диффузия растворенных веществ из матрицы растения обычно является лимитированной. На скорость диффузии соединения из матрицы образца могут иметь влияние следующие три фактора:

- 1) занятие матричных пространств молекулами сверхкритического флюида, которые могли бы уменьшить химическое сродство матрицы для растворенных веществ;
- 2) растворение веществ в сверхкритическом флюиде, что непосредственно связано с плотностью жидкости;
- 3) температурные эффекты, которые могут влиять на неустойчивость растворов, особенно с высокой точкой кипения.

Растворимость целевого соединения в сверхкритическом флюиде — основной фактор, определяющий эффективность экстракции. Растворимость контролируется суммой двух факторов: летучестью вещества, которая является функцией температуры, и эффектом сольватации сверхкритического флюида, который является функцией плотности жидкости. Число полярных функциональных групп, например гидроксильных групп, может влиять на летучесть растворенных веществ, определяя их экстрагируемость со сверхкритическим флюидом  $\text{CO}_2$ . Например, Сталл и др. смогли экстрагировать стероиды с тремя гидроксильными группами при давлении ниже 300 бар, но они не смогли экстрагировать стероиды, содержащие четыре гидроксильные группы, или три гидроксильные и одну кислотную группу, или один фенольный гидроксил с двумя другими гидроксильными группами (Stahl et al.) [85].

В SFE  $\beta$ -каротин из паприки, Уэзерс и др. [83] заметили, что, когда давление уменьшалось с 338 до 250 бар, что соответствовало уменьшению плотно-

сти жидкости, эффективность экстракции падала. При SFE лигнанов, схизандрола А, схизандрола В, схизандрин А, схизандрин В и схизандрин С из лимонника китайского *Schisandra chinensis*, Чой и др. обнаружили, что, если время экстракции было достаточно большим (например, 30 мин/100 мг растительного материала), температура (40–80°C) и давление (135–340 бар) сверхкритического CO<sub>2</sub> не оказывали заметного влияния на результаты экстракции целевых соединений лигнанов. Но если время экстракции составляло 6 мин, при увеличении давления значительно улучшались результаты экстракции по лигнанам (Choi et al.) [86].

По большому счету, часто целесообразно экстрагировать образцы чуть выше уровня, где целевые соединения становятся просто растворимы в флюиде, чтобы экстракция других соединений могла быть сведена к минимуму. Для достижения хорошей селективности процесса SFE также важен тщательный контроль плотности флюида. Например, при SFE масла из плодов дягиля лекарственного *Archangelica off. Hoffm.* было обнаружено, что практически никаких других соединений не было экстрагировано, за исключением желаемых, при соблюдении оптимальной температуры (60°C) и плотности CO<sub>2</sub>, контролируемой на уровне 0,3 г/мл. Если экстрагируются летучие соединения, увеличение плотности потока флюида CO<sub>2</sub> до уровня 0,80 г/мл приводит к понижению результата экстракции для соединений и к дополнительному экстрагированию значительного количества триглицеридов, что ухудшает качество экстракта и является причиной засорения. Сообщалось также, что условия экстракции 40°C и 80 атм были эффективны для SFE геранил-гераниола, дитерпеноида, без экстрагирования лимонного цедрелона, тритерпеноида (Modey et al.) [71]. Оптимальные условия для SFE эфирного масла из розмарина, майорана и листьев базилика находятся в пределах 40–50°C и 80–100 бар.

Контролируя плотность флюида, можно получить фракционирование экстракта. Например, при двухступенчатой сверхкритической флюидной экстракции антиоксидантных активных соединений, таких как карнозирированная кислота, карнозол, розманол, эпирозманол и изорозманол, из листьев розмарина можно сепарировать олеорезин на две фракции с различной антиоксидантной активностью и составом эфирных масел. Первый шаг был выполнен при экстракционных условиях 40°C и 100 бар, а второй — при 60°C и 400 бар, оба шага с пятиминутной статикой, за которой следует тридцатиминутная динамическая экстракция.

Однако, если целевые соединения не являются летучими, может потребоваться более высокая концентрация CO<sub>2</sub>. Например, при SFE хвои тихоокеанского тиса целевые соединения таксол и баккатин могут быть эффективно экстрагированы при 300 атм и 40°C (более высокая плотность CO<sub>2</sub>), а при 100 атм и 40°C (более низкая плотность CO<sub>2</sub>) основная часть экстракта — это восковидные соединения. Похожие результаты также наблюдались в SFE виндолина (алкалоид) из листьев барвинка розового *C. roseus*, где был достигнут чрезвычайно высокий результат экстракции при самых низких температурах (35°C) и максимальном давлении (300 бар), т. е. с высокой плотностью жидкости.

В дополнение к использованию в качестве сушильного агента, силикагели также могут использоваться в сверхкритической экстракции для улучшения общей селективности. Когда выходящий поток проходит через силикагель колонки, полярные соединения будут удержаны и поэтому сепарированы от неполярных составляющих. Каскадные сепараторы на основе градиента плотности флюида также могут обеспечить дальнейшее сепарирование экстракта. Например, эфирные масла с молекулярным весом 140–160 могут быть почти полностью отделены от кутикулярных восков (главным образом *n*-парафинов с C<sub>25</sub> до C<sub>35</sub> со средним молекулярным весом 408–430), используя сепараторы после экстракции. Восковидные соединения осаждаются в первом сепараторе при 0°C и 80 атм (Reverchon et al.) [87].

Из-за высокого содержания влаги в органических материалах, закупоривание может быть очень распространенной механической проблемой в процессе сверхкритической экстракции образцов растений. Как уже упоминалось выше, безводный сульфат натрия Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и силикагель эффективны для поглощения излишней влаги в процессе экстракции. Нагрев ограничителя до нужной температуры является еще одним эффективным способом избежать осаждения экстрагированных соединений, таким образом проблемы с закупориванием могут быть устранены.

Более простой, но все же эффективный способ — использовать высокие концентрации жидкого модификатора для увеличения растворимости органических соединений, так что экстрагируемые соединения будут эффективно вымываться в собирающую емкость. Например, при SFE таксанов из хвои европейского тиса *Taxus baccata*, когда концентрация метанола более 5%, ограничители не будут забиваться восковидными материалами. Опять же, плотность CO<sub>2</sub> следует тщательно определять; в противном случае при высокой плотности CO<sub>2</sub> (0,80 г/мл) могут выделяться значительные количества триглицеридов, которые будут вызывать закупорку ограничителя.

Одно интересное, но не часто используемое свойство представляет собой *in situ* транс-эстерификацию и экстракцию некоторых термически лабильных соединений. Без использования транс-эстерификации *in situ* в статическом периоде процесса SFE, эти соединения будут подвергаться термической изомеризации при аналитических условиях газовой хроматографии, что делает чрезвычайно сложной количественную оценку (Ibanez et al.) [84].

## ВОПРОСЫ

1. Какие три фактора влияют на скорость диффузии целевого соединения?
2. Какими двумя факторами контролируется растворимость целевого соединения?
3. На что влияет контроль плотности флюида?
4. На что могут влиять высокие концентрации жидкого модификатора?

## 6.5. МЕТОДЫ СБОРА РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСТРАКЦИИ

В SFE натуральных продуктов широко используемый метод сбора заключается в улавливании экстракта в жидкий растворитель, например дихлорметан  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  или этилацетат. Хранение емкости сбора в воде при комнатной температуре оказалось полезным при увеличении восстановления кава-лактонов. В условиях охлаждения при расширении жидкости разные улавливающие растворители могут показать различную эффективность. Например, при охлаждении емкости для сбора экстракта до  $-8^\circ\text{C}$  растворители  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и ацетон лучше восстанавливают летучие соединения, чем метанол или *n*-гексан. По сравнению с улавливанием в замороженном метаноле ( $-15^\circ\text{C}$ ) или в замороженном ацетоне ( $-60^\circ\text{C}$ ), было установлено, что улавливание в жидком азоте ( $-170^\circ\text{C}$ ) — наиболее эффективный способ сбора летучих соединений. Глубина емкости, где находится собирающий растворитель, также может влиять на результаты сбора. Одинаковый объем растворителя в более узкой емкости был более эффективным, чем в более широкой емкости (Sanagi et al.) [88].

Улавливание твердых частиц — еще один распространенный способ в коллекцию способов экстракций. Октадецил-силикагелевые ловушки octadecyl-silica (ODS) могут использоваться при  $15^\circ\text{C}$  для сбора эфирных масел и горьких веществ из хмеля, далее, после SFE, удерживаемые вещества можно промыть ацетонитрилом для восстановления (Verschuere et al.) [89]. Этот метод также был признан эффективным для удерживания летучих соединений в октадецил-силикагелевой ловушке (ODS) при температуре ниже  $15^\circ\text{C}$ , а затем элюирования этих соединений с органическим растворителем при повышении температуры до  $45^\circ\text{C}$ .

Преимущество для твердого улавливания заключается в том, что селективность может быть дополнительно улучшена при помощи селективного захвата наряду с селективным элюированием. Например, полярные соединения могут быть захвачены на колонке с силикагелем и затем элюируются соответствующими растворителями. Тем не менее, есть также некоторые недостатки для такого вида ловушек. Неправильно подобранный жидкостный модификатор может привести к значительным потерям, которые могут быть просто промыты через ловушку с помощью растворителя-модификатора. Также наблюдались нежелательные реакции, например происходящая элюция с использованием ошибочных растворителей.

Соединение сверхкритической экстракции с газовой хроматографией является хорошим альтернативным способом для анализа высоколетучих соединений. Специальный метод отбора проб был предложен Ibanez et al. [84], который состоял из стеклянного вкладыша испарителя-дозатора с программированием температуры (PTV,  $100\times 1$  мм, дюйм), компании Perkin-Elmer, помещенного внутрь нержавеющей стальной камеры, которая была заключена в кожух охлаждения и может быть охлаждена до  $-25^\circ\text{C}$  с использованием жидкого  $\text{CO}_2$ . Стеклянный вкладыш был заполнен кварцевым волокном на обоих концах и GasChrom 220 (сетка 80/100) посередине в качестве абсорбента для сбора высо-



колетучих компонентов. После экстракции вкладыш был введен в GC-инжектор, где происходила десорбция при увеличении температуры. Было получено высокое восстановление очень летучих соединений.

## ВОПРОСЫ

1. Назовите методы сбора результатов экстракции.
2. Каковы преимущества твердого улавливания?
3. Какую роль может сыграть неправильно подобранный жидкостный модификатор?

## 6.6. ОЧИСТКА ОТ ПЕСТИЦИДОВ МАТРИЦ РАСТЕНИЙ И ДРУГИХ ОБРАЗЦОВ

В дополнение к экстракции желаемых соединений из растительных матриц еще одно очень интересное применение метода SFE — очистка натуральных продуктов от пестицидов из препаратов, включая медицинские, содержащих растительный компонент. Так как сбор лекарственных растений в естественной среде ограничен, производители обычно получают сырье для лекарственных средств и БАД с помощью выращивания и культивации растений. Например, миллионы деревьев гинкго выращиваются в Европе, Северной Америке и Китае. Выращивание и культивация лекарственных растений обычно занимает годы и требует применения пестицидов для борьбы с вредителями. Неправильное и излишнее использование пестицидов может загрязнять почву, грунтовые воды и приводить к накоплению пестицидов в растениях.

Сверхкритическая экстракция продемонстрировала свою способность выступать в качестве протокола проверки или очистки от пестицидов пищевых и растительных матриц. Линг и др. разработали процедуру SFE для 13 хлорорганических пестицидов, включая гептахлор, альдрин и ДДТ. Средние значения показателей степени извлечения по испытываемым стандартам были 78–121% (Ling et al.) [74]. Хотя концентрации хлорорганического пестицида в лекарственных препаратах оказались намного ниже, чем уровни воздействия FDA, Food and Drug Administration (управление по санитарному контролю за качеством пищевых продуктов и медикаментов), метод SFE действительно обеспечивал протокол проверки для определения этих вредных соединений. Стефани и др. экстрагировано 92 различных пестицида с помощью сверхкритического CO<sub>2</sub> при более мягких условиях (45°C и 189 бар) (Stefani et al.) [90].

Обзор о применении SFE для удаления пестицидов (инсектицидов, фунгицидов и гербицидов и т. д.) из природных пищевых продуктов и растительных матриц был опубликован Ленотом в 1997 г. (Lenotay et al.) [91]. Как было показано в обзоре, SFE с использованием CO<sub>2</sub>, основываясь на свойствах растворимости пестицидов, хорошо подходит для экстракции большинства пестицидов. Сверхкритический CO<sub>2</sub>, несомненно, эффективный способ для очистки

растительных матриц от остатков пестицидов без введения любых токсичных растворителей.

Делая обобщенные выводы, использование октадецил-силикагелевых ловушек (ODS) с последующим элюированием ацетоном является наилучшим выбором для улавливания пестицидов с помощью SFE. Использование ODS-ловушки и ацетона как растворителя для элюирования давало наиболее устойчивое высокое восстановление.

## ВОПРОСЫ

1. На очистку от каких видов пестицидов может воздействовать сверхкритическая экстракция?
2. Какие виды ловушек наиболее эффективны для очистки от пестицидов?

## 6.7. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ В РЕЖИМЕ ОНЛАЙН И ОДНОВРЕМЕННАЯ СТЫКОВКА С ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Фракционирование в режиме онлайн — еще одно отличительное преимущество SFE. Изменяя условия SFE, можно разделить экстрагированные соединения в две группы. Например, при SFE тимьяна мастичного *Thymus mastichina* L., Бланч и др. использовали в режиме онлайн две разделительные емкости для получения соединений с малым выходом летучих фракций и средним выходом летучих фракций (температура и давление 50°C, 150 бар и, соответственно, 25°C, 50 бар) и стеклянный вкладыш PTV с 22,5-миллиметровым контактным штекером Tenax TA в качестве адсорбента для сбора летучей фракции (Blanch et al.) [92]. Первую и вторую фракции выделяли элюированием растворителя, в то время как третья фракция, которая была сохранена на стеклянном вкладыше, была непосредственно введена в газовый хроматограф (GC) для анализа. Десорбция и перенос сохраненного материала на капиллярную колонку были достигнуты повышением температуры форсунки до 350°C. Эта процедура особенно полезна для анализа сложных образцов, таким образом потерю летучих соединений можно свести к минимуму. Авторы считали, что их процедура также может быть применена при фракционировании сверхкритических экстрактов различных образцов, например, пищевых продуктов, хотя оптимальные условия могут быть разными.

В SFE азадирактина А, натурального пестицида, добываемого из ядрышек семян нима, Амбросино и др. использовали в пробной установке трехступенчатый метод фракционирования, они получили кутикулярные восковидные вещества в первом сепараторе и масляные соединения во втором и третьем сепараторах (Ambrosino et al.) [93].

Соединение SFE в режиме онлайн с хроматографическим методом является правильным решением для анализа летучих соединений. Смит и др. уста-

новили, что обычно требовалась низкотемпературная фокусировка ( $< -10^{\circ}\text{C}$ ) для сохранения летучих компонентов, т. е. летучие соединения осаждались и обогащались при низкой температуре и затем выпаривались при высокой температуре (Smith et al.) [94]. В дополнение к газовой хроматографии (SFE-GC) в режиме онлайн, сообщалось также о других эффективных методах, включая сверхкритическую хроматографию (SFE-SFC), инфракрасную спектроскопию на основе преобразования Фурье (SFE-FTIR) и масс-спектрометрию (SFE-MS).

Рамсей и др. сообщили о сверхкритической жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (SFE-LC-MS) в режиме онлайн в сочетании с ультрафиолетовым излучением для получения высокой степени точности для анализа целевых соединений (Ramsey et al.) [95]. Они использовали 10-портовый клапан-переключатель высокого давления для соединения и успешного определения лекарственных соединений в режиме онлайн при уровне чувствительности в одну миллиардную часть или мг/г.

Хотя техника онлайн-связи продемонстрировала свои достоинства, например эффективность экстракции для летучих соединений и легкость для автоматизации определения, тем не менее, некоторые недостатки ограничивают применение данного метода.

Эти следующие недостатки:

- 1) размер выборки может быть ограниченным;
- 2) хроматографическая система может загрязняться удерживаемыми компонентами;
- 3) малая анализируемая часть с неомогенными компонентами может не соответствовать большому образцу;
- 4) легче установить оптимальные условия для SFE в автономном режиме, где этап анализа не зависит от экстракции.

## **ВОПРОСЫ**

1. Расскажите о новейших эффективных методах фракционирования + хроматографирования в режиме онлайн.
2. Основные достоинства и недостатки данных методов.

## **6.8. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ЭКСТРАКЦИИ**

Еще одно важное преимущество методов SFE заключается в том, что посредством моделирования можно получить более полезную информацию, чем при обычных методах экстракции. Моделирование процессов SFE может помочь лучше понять и быстрее оптимизировать условия экстракции. Обсуждаемая ниже модель, которая была разработана Бартле и др. в 1990 г., является простой, но практически полезной — модель «горячего шара» (Bartle et al.) [96].

Предположим, что все частицы образца находятся в среднего размера сферической форме и масса растворенного вещества в начальной матрице равняется  $M_0$ . После определенного экстракционного времени,  $t$ , оставшаяся масса растворенного вещества в матрице становится  $M$ . Тогда при  $t \geq t_c$  линейное соотношение будет отображаться путем построения  $\ln(M/M_0)$  против  $t/t_c$ , где  $t_c$  — время нарастания, которое связано с коэффициентом диффузии,  $D$ , и радиусом частицы сферической формы,  $r$ , по формуле  $t_c = \frac{r^2}{\pi^2 D}$ .

Это говорит о том, что скорость экстракции может быть связана с двумя факторами — диффузностью анализата внутри матрицы и размером частиц образца.

SFE выполняется по крайней мере до тех пор, пока в начальный неэкспоненциальный период масса экстрагированного растворенного вещества представляет собой  $M_1$ , а затем происходит экстракция в течение двух последующих периодов времени для получения растворенных масс  $M_2$  и  $M_3$ . Тогда общая масса исходного растворенного вещества в образце может быть вычислена по формуле

$$M_0 = \frac{M_1 + M_2^2}{(M_2 - M_3)}.$$

Здесь величина  $M_0$  не только полезна для механизма исследований, но также и самый простой способ оценить эффективность процесса экстракции. После вычисления  $M_0$  построение  $\ln(M/M_0)$  относительно времени экстракции обычно показывает две части на кривой экстракции — начальную падающую часть, а затем прямолинейную часть. Начальное понижение экстракции возникает, когда включаются любые отрицательные эффекты, возникающие из ограничения растворимости, например уменьшение количества экстрагируемого вещества с внешних поверхностей частицы матрицы. Прямая часть указывает на экстракцию из глубинных слоев матрицы; следовательно, это самая трудоемкая часть экстракции.

Если построение  $\ln(M/M_0)$  относительно экстракционного времени показывает прямую линию без крутого падения, тогда предполагают:

- 1) либо низкую растворимость растворенного вещества в сверхкритическом флюиде;
- 2) либо испарение растворенного вещества с поверхности перед экстракцией.

Используя модель горячего шара, данные, полученные при быстрой экстракции, могут быть использованы для получения количественной аналитической информации. Например, используя кинетическое моделирование экстракции и чистый  $\text{CO}_2$ , Деан и Лиу рассчитали, что теоретические результаты экстракции ( $M_0$ ) для деокси-схизандрина из плодов *S. chinensis* составляли 0,496% (весовое соотношение), а для паеonoла из пиона древовидного *Paeonia suffruticosa* составляли 2,135% (весовое соотношение), а их экспериментальные результаты экстракции составляли 0,449 и 1,960% соответственно (J. R. Dean and B. Liu) [97].

Результаты эксперимента хорошо согласовались с прогнозируемыми значениями ( $< 10\%$ ). При использовании метанола как модификатора к сверхкритическому  $\text{CO}_2$  (10% метанол) в эксперименте было восстановлено 0,483% деокси-схизандрина и 2,346% пaeонола, что снова подтвердило полезность модели кинетической экстракции. Авторы также рекомендовали время экстракции, которое было в четыре раза больше, чем  $t_c$ , используемое для количественно оцениваемых экстракционных результатов.

## ВОПРОСЫ

1. Опишите модель «горячего шара».
2. Как оценить эффективность процесса экстракции?
3. На какие три части распадается график экстракции?

## 7. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДЫ (SCW) ДЛЯ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ

Использование суб- или окологкритических флюидов является одной альтернативой для получения эффективной «зеленой» экстракции. Так называемые субкритические жидкости могут колебаться от жидкого CO<sub>2</sub> до субкритической воды (SCW) для экстрагирования и фракционирования пищевых матриц. Субкритическая вода была широко изучена с 1990-х гг., как подходящая альтернатива SC-CO<sub>2</sub> и дополняющая использование CO<sub>2</sub>, позволяя применять полностью натуральную процессинговую платформу. Растворяющие особенности SCW (субкритической воды) были охарактеризованы с точки зрения ее диэлектрической постоянной (Ibanez et al., 2003) [98] с точки зрения температурно-зависимого коэффициента растворимости  $\delta$ . Как показано на рисунке 32, коэффициент образования водородной связи ( $\delta_H$ ) коэффициент растворимости воды  $\delta$  больше всего зависим от увеличения температуры, таким образом разрешая воде делать растворимыми и полярные, и, в конечном счете, неполярные растворы, при увеличении температуры.

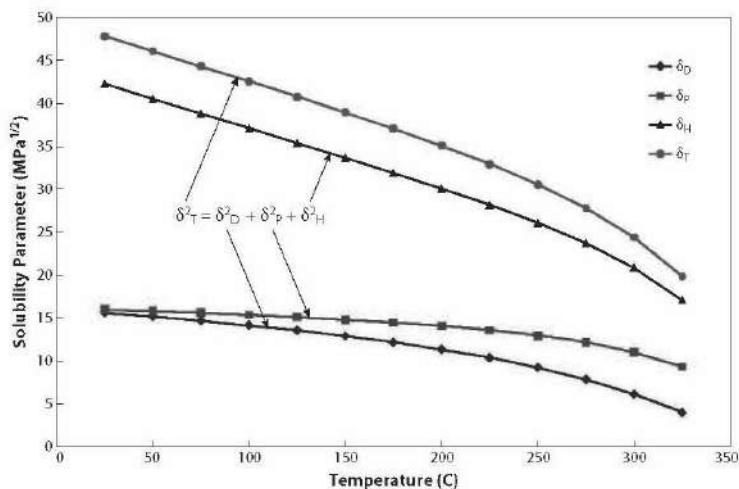


Рис. 32

Трехмерные параметры растворимости Хансена для подкритической воды, как функции от температуры [149]

Для экстракции пищевых компонентов и натуральных продуктов субкритическая вода (SCW) используется в приведенном температурном диапазоне 0,50–0,80, который требует, чтобы очень низкое приведенное давление ( $P_r = 0,02–0,35$ ) поддерживало ее в горячем жидком состоянии. В таких условиях SCW становится очень эффективной экстрагирующей средой для очень полярных растворов, таких как флавоноиды, сахар и полипроизводные фенола, которые присутствуют в натуральных продуктах (Shi et al., 2012) [99].

В таблице 4 показаны данные, сравнивающие эффективность сверхкритической CO<sub>2</sub>-экстракции и субкритической водной экстракции. Экстракция с SCW не требует высушивания продуктов питания или натуральных продуктов, и сопутствующие затраты оборудования являются намного более дешевыми, чем строительство установки SFE.

Таблица 4

**Сравнение сверхкритической CO<sub>2</sub>-экстракции  
и субкритической водной экстракции**

	<b>Сверхкритическая CO<sub>2</sub> экстракция</b>	<b>Субкритическая водная экстракция</b>
Высушивание	Есть	Нет
Экстрагирование твердых углеводов	Есть	Нет
Стоимость монтажа	Высокая	Ниже средней
Экстракционные условия	Мягкие	Средние
Эффект концентрации	Есть	Нет
Экологичность способа экстракции	Есть	Есть
Отстой (остаток)	Есть	Есть

Однако полученные экстракты с помощью субкритической водной экстракции (SWE) будут часто требовать удаления воды, если SWE не может быть быстро выполнена. Такой момент часто имеет место, поэтому время пребывания в емкости экстракции материала, подвергающегося SWE, должно быть минимизировано, чтобы избежать любой термической деградации и субстрата, и получающегося в результате экстракта. SCW является чрезвычайно универсальной средой и используется для гидролиза растительных масел, чтобы производить жирные кислоты; для экстракции ароматов, специй, и эфирных масел; для разложения как целлюлозосодержащих и лигнин-содержащих натуральных полимеров до олигомерных карбогидратных смесей, так и полифенольных составов.

## ВОПРОСЫ

1. В чем преимущества и недостатки использования субкритической воды в экстракции?
2. Для экстракции каких видов натуральных веществ используется субкритическая вода?

## **8. ИНАКТИВАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ УГЛЕКИСЛЫМ ГАЗОМ ПОД СВЕРХКРИТИЧЕСКИМ ДАВЛЕНИЕМ**

Термическая пастеризация — хорошо известная и старая техника для снижения уровня микробиологического загрязнения. Однако традиционная термическая обработка может уничтожать чувствительные к нагреванию питательные вещества и нивелировать такие качества пищевых продуктов, как аромат, цвет и текстуру. Около двадцати лет назад было предложено в качестве альтернативного метода холодной пастеризации для пищевых продуктов использование сверхкритического  $\text{CO}_2$ . Этот метод имеет некоторые фундаментальные преимущества, связанные с умеренными условиями эксплуатации, так как позволяет обрабатывать продукты при гораздо более низкой температуре, чем при термической пастеризации. Несмотря на интенсивные исследовательские усилия последних лет, техника применения сверхкритического  $\text{CO}_2$  до сих пор широко не используется в пищевой промышленности. Ниже представлен обзор опубликованных сообщений об обработке сверхкритическим  $\text{CO}_2$  для микробной инактивации, а также рассматриваются проблемы технологии, например механизм бактерицидного воздействия углекислого газа и возможный потенциал для инактивации вегетативных клеток и бактериальных спор.

### **8.1. СРАВНЕНИЕ СУЩЕСТВУЮЩИХ МЕТОДОВ ИНАКТИВАЦИИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

Термическая консервация пищевых продуктов — хорошо известная и старая техника для уменьшения количества микробного загрязнения. Этот метод адаптирован к сложному балансу между избыточным нагревом (ухудшающим органолептические свойства пищи) и недостаточным нагревом (приводящим к небезопасному использованию пищевых продуктов и их некачественности). Для теплочувствительной пищи термическая пастеризация может привести нежелательные органолептические изменения в дополнение к некоторому вредному влиянию на качество пищи. Из-за увеличения потребительского



спроса на питательные, свежие пищевые продукты с высокими органолептическими качествами и расширенным сроком использования, были предложены в виде альтернативы различные виды нетепловой обработки продуктов.

Среди нетепловых технологий инактивации воздействие высоким гидростатическим давлением (high hydrostatic pressure, ННР) и импульсные электрические поля (pulsed electrical fields, PEF) являются наиболее изученными.

Несмотря на то что ННР предлагает отличные возможности для сохранения пищевых ингредиентов, он также имеет некоторые серьезные ограничения, такие как:

- 1) появление устойчивых к давлению вегетативных бактерий после обработки давлением;
- 2) большие инвестиционные затраты (из-за высокого давления);
- 3) в настоящее время прерывистый характер процесса;
- 4) нормативные вопросы по безопасности продуктов.

Эти недостатки препятствуют широкомасштабному внедрению ННР в процессы по сохранению продуктов в пищевой промышленности.

Уже почти два десятилетия использование сверхкритического углекислого газа также предлагается в качестве альтернативного способа нетепловой пастеризации для пищевых продуктов (Spilimbergo et al.) [100]. При использовании техники SC CO<sub>2</sub> пища контактирует с суб- или сверхкритическим CO<sub>2</sub> (под давлением) в течение определенного времени непрерывно или периодически. Сверхкритический CO<sub>2</sub> представляет собой CO<sub>2</sub> при температуре и давлении выше значений критической точки ( $T_c = 31,1^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 7,38$  МПа) и существует в виде одной фазы. Сверхкритический CO<sub>2</sub> обладает уникальной способностью диффундировать через твердые частицы, как газ, и растворять такие соединения, как жидкость. Кроме того, он может легко меняться по плотности при незначительных изменениях температуры или давления.

С другой стороны, субкритическим (газообразным или жидким) CO<sub>2</sub> является при температуре или давлении ниже его термодинамической критической точки. Техника SC CO<sub>2</sub> дает некоторые преимущества перед ННР, что связано с более мягкими условиями использования. Кроме безопасного с экологической точки зрения характера процесса SC CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub> нетоксичен), давление CO<sub>2</sub>, применяемое для целей сохранения и микробиологической инактивации, значительно ниже (обычно < 20 МПа) по сравнению с гидростатическим давлением, используемым в ПГП (~ 300–600 МПа). Кроме того, производственные расходы могут быть значительно сокращены. Несмотря на увеличение исследований последних лет, SC CO<sub>2</sub>-техника сохранения и микробиологической инактивации продуктов до настоящего времени еще не реализована широко в пищевой индустрии.

## ВОПРОСЫ

1. Какие техники нетеплового воздействия на инактивацию микроорганизмов известны в настоящий момент?
2. Что такое субкритическое состояние CO<sub>2</sub>?

## 8.2. МЕХАНИЗМ БАКТЕРИЦИДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

### 8.2.1. ОСНОВЫ

Известно, что  $\text{CO}_2$  может оказывать ингибирующее воздействие на рост бактерий (Valley and Rettger, 1927) [101]. С тех пор было опубликовано много информации об изучении влияния  $\text{CO}_2$  на рост микробов и на качество продуктов питания. Однако долгое время не был известен специфический механизм бактериостатического воздействия  $\text{CO}_2$ . В 1985 г. Дэниелс и коллеги тщательно проанализировали основные теории, объясняющие бактериостатическое воздействие (газообразного)  $\text{CO}_2$ . Большинство из этих теорий использовались в более поздние годы многими разными авторами, например: Hong and Ryun [102]; Spilimbergo and Bertucco [212], чтобы объяснить бактериостатическое действие сжатого  $\text{CO}_2$ . По-прежнему точно не определены ясный механизм или механизмы дезактивации.

На рисунке 33 схематически показано, как сжатый  $\text{CO}_2$  может оказывать угнетающее воздействие на бактерии. Различные этапы этого упрощенного и гипотетического механизма инактивации могут быть суммированы следующим образом (и будут подробно обсуждаться ниже): 1) сольюбилизация сжатого  $\text{CO}_2$  в жидкой фазе; 2) модификация клеточной мембраны; 3) уменьшение внутриклеточного уровня pH ( $\text{pH}_i$ ); 4) инактивация ключевых ферментов/ингибирование клеточного метаболизма из-за понижения pH; 5) прямой (ингибирующий) эффект молекулярного  $\text{CO}_2$  и  $\text{HCO}_3^-$  на метаболизм; 6) разупорядочение внутриклеточного электролитного баланса; 7) удаление жизненно важных компонентов из клеток и клеточных мембран. Следует отметить, что большинство этих шагов не произойдет именно в такой последовательности, а сложным и взаимосвязанным образом.

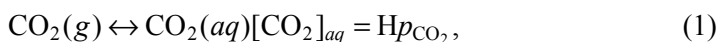
### ВОПРОСЫ

1. Каковы этапы механизма инактивации микроорганизмов при воздействии сверхкритическим  $\text{CO}_2$ ?

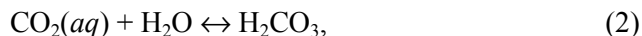
### 8.2.2. ДЕТАЛИЗИРОВАННЫЙ МЕХАНИЗМ

#### 8.2.2.1. ШАГ 1. СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ СЖАТОГО $\text{CO}_2$ В ЖИДКОЙ ФАЗЕ

В пищевых продуктах (или бульонах) с высоким содержанием воды  $\text{CO}_2$  (присутствующий в рабочем пространстве реактора) может растворяться в воде для образования карбоновой кислоты ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), которая диссоциирует в бикарбонат ( $\text{HCO}_3^-$ ), карбонат ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) и водород ( $\text{H}^+$ ) согласно следующей шкале равновесий:



где  $H = 3,3 \cdot 10^{-2}$  моль/(л атм) (25°C).



где  $[\text{H}_2\text{CO}_3]/[\text{CO}_2]_{\text{aq}} = 1,7 \cdot 10^{-3}$  моль/л (25°C).



где  $[\text{HCO}_3^-][\text{H}^+]/[\text{H}_2\text{CO}_3] = 2,5 \cdot 10^{-4}$  моль/л (25°C).



где  $[\text{CO}_3^{2-}][\text{H}^+]/[\text{H}_2\text{CO}_3] = 5,61 \cdot 10^{-11}$  моль/л (25°C).

Обозначения (g) и (aq) относятся к состоянию, т. е. газ или водный раствор. В нормальных атмосферных условиях концентрация растворенного (негидратированного) диоксида углерода,  $\text{CO}_2(\text{aq})$ , может быть связана с внешним парциальным давлением  $\text{CO}_2$  ( $p_{\text{CO}_2}$ ) и постоянной (H) закона Генри. Но закон Генри требует идеального газового поведения и разбавленного раствора. При условиях воздействия  $\text{CO}_2$  под давлением эти предположения не обязательно действительны. Кроме того, равновесными константами реакций (2)–(4) являются давление и температура. Поэтому были разработаны улучшения термодинамической модели (с использованием подхода, основанного на уравнениях) для точного прогнозирования растворимости  $\text{CO}_2$  (и pH) в водных растворах при повышенном давлении.

Вследствие равновесных уравнений (1)–(4), вода, контактируя с находящимся под давлением  $\text{CO}_2$ , обычно становится кислой вследствие образования и диссоциации  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , и высвобождаются ионы  $\text{H}^+$ . Этот пониженный внеклеточный pH ( $\text{pH}_{\text{ex}}$ ) может ингибировать микробный рост, а также может уменьшить резистентность микробов к инаktivации из-за увеличения энергетических затрат для поддержания гомеостаза pH протондвижущей силой (Hutkins and Nannen) [104]. Однако уменьшения  $\text{pH}_{\text{ex}}$  недостаточно для объяснения летального эффекта воздействия  $\text{CO}_2$ , т. е. почему он показывает ингибирующий эффект больше, чем другие кислоты, используемые для снижения кислотности среды (например, соляная кислота и фосфорная кислота). Эти кислоты, похоже, не попадают в микробиальные клетки так же легко, как  $\text{CO}_2$ . Lin et al. [105] в своих статьях предположили, что пониженный  $\text{pH}_{\text{ex}}$  способствует увеличению проницаемости клеток, что облегчает проникновение  $\text{CO}_2$  в микробиальные клетки (см. шаг 2). По мнению данных авторов, это, возможно, объясняет, почему было обнаружено, что  $\text{CO}_2$  проникает в клетки намного быстрее, чем другие молекулы, которые не дают подкисления в растворе. Однако более вероятно, что прямое воздействие (негидратированного)  $\text{CO}_2$  на мембрану (см. шаг 2) важнее для объяснения высокого уровня проникновения в бактериальные клетки.

## ВОПРОСЫ

1. Может ли пониженный клеточный pH ингибировать микробный рост?
2. Показывает ли соляная кислота больший ингибирующий эффект, чем сверхкритический  $\text{CO}_2$ ?

### 8.2.2.2. ШАГ 2. МОДИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ

При приближении к поверхности бактериальной клетки водный (негидратированный)  $\text{CO}_2$  может диффундировать в клеточные (плазматические) мембраны и накапливаться в липофильном (фосфолипидном) внутреннем слое. Высокое сродство между  $\text{CO}_2$  и клеточной мембраной было (теоретически) подтверждено Spilimbergo et al. [106], которые подсчитали, что  $\text{CO}_2$  может растворяться в фосфолипидах клеточной мембраны (главным образом в фосфотидилэтаноламинах и фосфатидилглицерине) в очень большой степени.

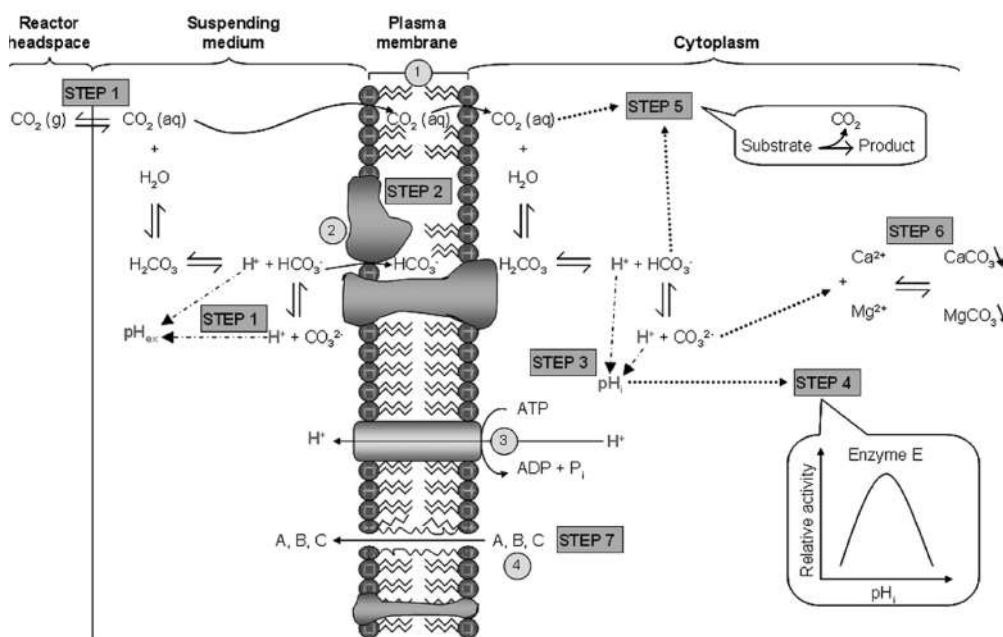


Рис. 33

Схематическое изображение того, как находящийся под давлением  $\text{CO}_2$  может оказывать смертельное воздействие на бактерии. Также показано, помимо различных этапов механизма инактивации, что представляют собой:

- 1 — фосфолипидная двухслойная структура; 2 — интегральные мембранные белки;
- 3 — клеточная мембрана  $\text{H}^+$ -АТФазы; 4 — внутриклеточные вещества [144].

Это накопленное количество (негидратированного)  $\text{CO}_2$  в липидной фазе может затем структурно и функционально нарушать клеточную мембрану из-за потери порядка липидной цепи (процесс, известный как «потеря чувствитель-

ности, анестезия»), что может увеличить текучесть (и, следовательно, проницаемость) мембраны. Разжижение мембраны, вызванное воздействием  $\text{CO}_2$  (при давлении  $\text{CO}_2$  до 13,9 МПа), в последнее время может быть продемонстрировано на образце клеточной мембраны (липосомы дипальмитоил фосфатидилхолина), а также (хотя и в меньшей степени) в термофильной бактериальной модели (*Clostridium thermocellum*) (Bothun et al.) [107]. Однако, в отличие от «истинных» анестезирующих молекул, которые обычно вызывают увеличение проницаемости мембраны для воды, уменьшение мембранной проницаемости воды наблюдалось при контакте с  $\text{CO}_2$ . Поэтому последние авторы предположили, что дополнительное влияние на мембрану может быть обусловлено наличием ионов  $\text{HCO}_3^-$ , которые могут воздействовать на группы заряженных фосфолипидов и белков на поверхности мембраны для изменения поверхностного заряда клетки, тем самым изменяя оптимальную плотность поверхностного заряда мембраны и, следовательно, изменяя оптимальное функционирование мембран (рис. 33).

## ВОПРОСЫ

1. Как накопленное количество негидратированного  $\text{CO}_2$  может нарушать клеточную мембрану?
2. Как наличие ионов  $\text{HCO}_3^-$  воздействует на мембранную проницаемость?

### 8.2.2.3. ШАГ 3. СНИЖЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH

Из-за повышенной проницаемости мембраны сжатый  $\text{CO}_2$  может легко проникать через мембрану бактериальных клеток и накапливаться в цитоплазме бактериальных клеток. В цитоплазме относительные концентрации как водного  $\text{CO}_2$ , так и  $\text{HCO}_3^-$  контролируемы, в основном, внутренней буферизацией pH в результате гомеостаза pH, чтобы поддерживать более или менее постоянный  $\text{pH}_i$  в самой цитоплазме (который необходим для оптимальной жизнеспособности клеток и клеточной активности). Большинство организмов развили механизмы контроля и регулирования  $\text{pH}_i$ , например: 1) цитоплазматическая буферизация; 2) взаимосвязанный перенос через клеточную мембрану двух растворов в одном направлении; 3) производство кислот или оснований; 4) протонные насосы (Booth) [108]. Однако, хотя цитоплазма большинства микроорганизмов имеет относительно высокую буферную емкость, она, по-видимому, используется клетками ограниченно для противодействия изменениям  $\text{pH}_i$  (Hutkins et Nannen) [104].

Более важной гомеостатической системой является мембранная связь  $\text{H}^+$  — АТФаза (аденозинтрифосфатаза), которая вытесняет протоны из цитоплазмы согласно разнице преобладающего градиента pH ( $\Delta\text{pH} = \text{pH}_i - \text{pH}_{ex}$ ) и электрохимического (транс-мембранный потенциал) градиента (сумма обоих градиентов известна как протон-движущая сила). Если слишком много раство-

ренного  $\text{CO}_2$  попадает в цитоплазму, клетки могут не успевать удалять все полученные протоны, и  $\text{pH}_i$  начнет уменьшаться. Если  $\text{pH}_i$  слишком сильно снижается, жизнеспособность клеток будет серьезно страдать (см. шаг 4). Кроме того, в результате шага 1 клетки также не могут поддерживать требуемую большую  $\Delta\text{pH}$ . Следовательно, нарушение клеточной активности может совпадать как с низким  $\text{pH}_i$ , так и с неспособностью дальнейшей поддержки большой  $\Delta\text{pH}$  [104]. Spilimbergo et al. [109], используя проточную цитометрию в комбинации с флуоресцентным зондом, определили, что  $\text{pH}_i$  суспензии *Bacillus subtilis* уменьшился до значения 3,3 при  $\text{SC CO}_2$  (8 МПа, 30°C, 5 мин). При значении  $\text{pH}_{\text{ex}}$  3,2, рассчитанном теоретически с помощью уравнения состояния молекулярностатической теории ассоциированных флюидов SAFT, может быть продемонстрировано пятидесятикратное сокращение клеток *B. subtilis*. Поскольку значения  $\text{pH}_i$  и  $\text{pH}_{\text{ex}}$  были очень близки, эти данные, похоже, подтверждают гипотезу о том, что при воздействии на микроорганизмы  $\text{SC CO}_2$  невозможно поддерживать благоприятный гомеостаз  $\text{pH}$  в цитоплазме.

## ВОПРОСЫ

1. Приведите механизмы контроля и регулирования организмами  $\text{pH}$ .
2. Как влияет на величину  $\text{pH}$  мембранная связь  $\text{H}^+$  — АТФаза?
3. Что такое протон-движущая сила?

### 8.2.2.4. ШАГ 4. КЛЮЧЕВАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ/ КЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ ИЗ-ЗА ПОНИЖЕНИЯ $\text{pH}_i$

Хотя многие аспекты клеточной структуры и ее функции находятся под влиянием  $\text{pH}_i$ , особенно чувствительна каталитическая активность ферментов. Ферменты, которые составляют большинство белков в гиалоплазме, обладают максимальной активностью при оптимальном  $\text{pH}$ , и их активность резко снижается при изменении оптимальной величины как в ту, так и в другую сторону. Так снижение цитозольного  $\text{pH}_i$  (см. шаг 3) может вызвать ингибирование и/или инактивацию ключевых ферментов, необходимых для метаболических и регулирующих процессов, например гликолиза, аминокислотного и пептидного переноса, активного переноса ионов и протонной транслокации. Таким образом, потеря биологического контроля над  $\text{pH}_i$  клеток может быть вредной во всех аспектах промежуточного метаболизма и клеточных функций.

Hong and Pyun [110], которые исследовали физиологические изменения клеток *Lactobacillus plantarum* при воздействии  $\text{SC CO}_2$  для изучения их релевантности к микробиальной инаktivации, показали, что совершенно неожиданно  $\text{H}^+$ -АТФаза клеточной мембраны (см. шаг 3) сохраняла свою первоначальную удельную активность даже несмотря на то, что жизнеспособность клеток снижалась в течение нескольких циклов после воздействия  $\text{SC CO}_2$ . Поэтому они предположили, что мембрана  $\text{H}^+$ -АТФазы не является основной локализацией микробной инаktivации с помощью  $\text{SC CO}_2$ . Они также показали, что из

13 ферментов, идентифицированных в необработанных клетках, некоторые значительно теряют свою активность, тогда как другие только ее незначительно снижают под воздействием сжатого  $\text{CO}_2$ . Spilimbergo [106], используя аналогичный подход, также продемонстрировал селективную инактивацию нескольких ферментов в *B. subtilis* до и после обработки  $\text{CO}_2$ . Ballestra et al. [111] предположил, что селективная инактивация фермента может являться результатом снижения цитозольного pH до кислых значений, которые могут индуцировать осаждение только ферментов с кислотной изоэлектрической точкой, оставляя растворимость ферментов с основной изоэлектрической точкой без изменений. Однако, в соответствии с Hong и Pyun [110], Spilimbergo также не мог установить, была ли наблюдаемая селективная ферментативная инактивация первичной причиной гибели клеток или это было связано с уменьшением жизнеспособности клеток после воздействием сжатого  $\text{CO}_2$ .

## ВОПРОСЫ

1. Как снижение цитозольного pH влияет на механизм пептидного переноса?
2. Является ли мембрана  $\text{H}^+$ -АТФазы основной локализацией микробной инактивации с помощью SC  $\text{CO}_2$ ?

### 8.2.2.5. ШАГ 5. ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ МОЛЕКУЛЯРНОГО $\text{CO}_2$ И $\text{HCO}_3^-$ В МЕТАБОЛИЗМЕ

Регулирование метаболизма может происходить на нескольких уровнях. Скорость каждой ферментативной реакции — не только функция pH (см. шаг 4), но также и внутриклеточной концентрации его субстрата(-ов), продукта(-ов) и дополнительных факторов, которые являются первичными элементами в регуляции ферментативной активности. Концентрация аниона  $\text{HCO}_3^-$ , который контролируется внутриклеточно внутренней буферизацией pH, по-видимому, является главной в регулировании ферментативной активности (и, следовательно, клеточного метаболизма) с некоторым стимулированием энзимами и некоторым ингибированием анионов. Регуляция эффективна на общем анион-чувствительном участке, который присутствует в этих ферментах. Растворенный (негидратированный)  $\text{CO}_2$  не исполняет никакую из общих регуляторных функций, которые осуществляет анион  $\text{HCO}_3^-$  с данными энзимами.

Jones and Greenfield [112] выяснили влияние аниона  $\text{HCO}_3^-$  и растворенного (негидратированного)  $\text{CO}_2$  на реакции карбоксилирования и декарбоксилирования. В этих реакциях  $\text{CO}_2$  выполняет роль либо биосинтетического субстрата в реакциях карбоксилирования или в реакциях декарбоксилирования продуктов метаболизма. Особенно важны реакции карбоксилирования для глюконеогенеза, биосинтеза глюкозы из неуглеводных субстратов и синтеза конкретных биосинтетических аминокислот-предшественников и нуклеиновых кислот. Так как нет никакого обобщенного предпочтения для растворенного (не-

гидратированного)  $\text{CO}_2$  или  $\text{HCO}_3^-$  в качестве субстрата в реакциях карбоксилирования, соотношение растворенного  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  частично определит относительную скорость реакции, при которых действуют различные семейства карбоксилаз.

Что касается реакций декарбоксилирования, все они для получения  $\text{CO}_2$  проявляются в растворенной (негидратированной) форме  $\text{CO}_2$ . Хотя ясно, что растворенный  $\text{CO}_2$  может ингибировать реакции декарбоксилирования, ингибирующие эффекты, которые может иметь  $\text{CO}_2$  на декарбоксилазы, не ясны и могут быть сведены либо к ингибированию продукта с помощью  $\text{CO}_2$ , либо к равновесному эффекту действия масс.

В заключение, отдаленное воздействие будет иметь то обстоятельство, что  $\text{CO}_2$  в различных состояниях может оказывать влияние на микробиальный метаболизм, что будет иметь относительную значимость в различных реакциях карбоксилирования и декарбоксилирования.

## ВОПРОСЫ

1. Каково влияние аниона  $\text{HCO}_3^-$  и растворенного (негидратированного)  $\text{CO}_2$  на реакции карбоксилирования?

2. Может ли растворенный  $\text{CO}_2$  ингибировать реакции декарбоксилирования?

### 8.2.2.6. ШАГ 6. НАРУШЕНИЕ УПОРЯДОЧЕННОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ЭЛЕКТРОЛИТНОГО БАЛАНСА

Летальный урон биологической клеточной системе может быть также нанесен, когда давление приложенного  $\text{CO}_2$  накапливается в цитоплазме бактериальных клеток. Это может превратить  $\text{HCO}_3^-$  в  $\text{CO}_3^{2-}$ , который может осаждать внутриклеточные неорганические электролиты (такие как  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и аналогичные ионы) из клеток и клеточных мембран (Lin et al., 1993) [113]. Поскольку эти неорганические электролиты (помимо осуществления важной регуляции большого количества других операций с клетками) оказывают помощь в поддержании осмотических связей между клетками и окружающими их средами, данный момент может оказывать вредное воздействие на клеточный объем.

В общем, цитоплазматическая концентрация свободного  $\text{Ca}^{2+}$  (около  $0,1 \mu\text{M}$  в *Escherichia coli*) на несколько порядков меньше, чем его полная внутриклеточная концентрация, что подразумевает огромную буферизацию  $\text{Ca}^{2+}$  внутриклеточными компонентами, в частности белками. Некоторые типы этих  $\text{Ca}^{2+}$ -/ $\text{Mg}^{2+}$ -связывающие белки также могут быть доступны для осаждения с помощью  $\text{CO}_3^{2-}$  в зависимости от места связывания иона и химической структуры белка.

Кроме того, спад протондвижущей силы в целом по мембране из-за понижения  $\text{pH}_{\text{ex}}$  (шаг 1) также может привести к дезорганизации цитоплазматиче-



ских уровней  $\text{Ca}^{2+}$ , поскольку было показано, что в прокариотах (например, *E. coli*) вытеснение  $\text{Ca}^{2+}$  катализируется антипортером  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ , приводимым в движение протондвижущей силой.

## ВОПРОСЫ

1. Что происходит, когда давление приложенного  $\text{CO}_2$  накапливается в цитоплазме бактериальных клеток?
2. Оказывают ли неорганические электролиты помощь в поддержании осмотических связей между клетками?
3. Может ли  $\text{CO}_3^{2-}$  осаждать внутриклеточные неорганические электролиты?

### 8.2.2.7. ШАГ 7. УДАЛЕНИЕ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ КЛЕТОК И КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

Различные авторы также предполагали, что накопленный  $\text{CO}_2$  может — благодаря его относительно высокой сольватирующей силе — «извлекать» витальные компоненты из клеток или клеточных мембран. Если рассмотреть этот механизм действия, то сжатый  $\text{CO}_2$  сначала проникает в клетки, чтобы создать плотность до критических уровней внутри клетки (см. шаги 2 и 3), после чего он удаляет внутриклеточные компоненты (такие как фосфолипиды и гидрофобные соединения), нарушая или изменяя структуру биомембраны и/или баланс биологической системы, тем самым способствуя инактивации. Этот процесс удаления, по-видимому, усиляется внезапным высвобождением приложенного давления, что приводит к быстрому переносу внутриклеточных материалов из биосистемы во внеклеточную среду. Lin et al. [113] также предположили, что уровень инактивации может быть улучшен путем повторения высвобождения и перезарядки сжатого  $\text{CO}_2$  в сосуде высокого давления во время обработки для улучшения переноса внутриклеточных материалов из бактериальных клеток.

Эта теория была подтверждена Ballestra et al. [111], они продемонстрировали, что некоторые клетки *E. coli*, обработанные  $\text{CO}_2$  под давлением 5 МПа и 35°C, показали некоторые признаки деформации клеточных стенок. Hong et al. [114] смогли продемонстрировать изменения в клеточной мембране (например, увеличенное периплазматическое пространство между стенками и цитоплазмой мембраны и разрушения в мембранах) клеток *L. plantarum* с возможной утечкой цитоплазматической мембраны или цитоплазмы после обработки с помощью сжатого  $\text{CO}_2$ . К тому же, Hong and Pyun [110] заметили, что клетки *L. plantarum*, обработанные  $\text{CO}_2$  под давлением, равным 7 МПа, при 30°C в течение 10 мин, приобретают необратимые повреждения клеточной мембраны, включая утрату УФ-поглощающего вещества, высвобождение внутриклеточных ионов (таких как  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{K}^+$ ) и захват красного кислотного ксантенового красителя флоксина В (который неповрежденные жизнеспособные клетки может активно вытес-

нять). Также Bertoloni et al. [115] подтвердили эту гипотезу открытием, что внутриклеточные ферменты бактериальных клеток (*E. coli*) были удалены во внеклеточную среду после обработки CO<sub>2</sub>.

На основе имеющихся исследований можно сделать вывод, что, хотя деформация и потеря целостности клеточной мембраны может быть причиной гибели некоторой части клеток, другие механизмы (этапы 3–6) должны быть более важными в летальном воздействии SC CO<sub>2</sub> и, вероятно, имеют синергетический эффект.

## ВОПРОСЫ

1. Как CO<sub>2</sub> извлекает витальный компонент из клеток и клеточных мембран?
2. Как высвобождение внутриклеточных ионов влияет на состояние клеточной мембраны?

## 8.3. ИНАКТИВАЦИЯ ВЕГЕТАТИВНЫХ КЛЕТОК

### 8.3.1. ВЛИЯНИЕ ДАВЛЕНИЯ И ТЕМПЕРАТУРЫ

В почти каждом исследовании, найденном в научной литературе по микробной инаktivации SC CO<sub>2</sub>, сообщается о влиянии давления и температуры на эффективность инаktivации. Эти параметры влияют на микробную инаktivацию в наибольшей степени, прямо влияя на характеристики массопереноса CO<sub>2</sub> и биологическую активность микробных клеток.

В целом, инаktivация микроорганизмов ускоряется с увеличением давления CO<sub>2</sub>. Как следствие, при более высоких давлениях требуется меньшее время экспозиции для инаktivации того же уровня микробных клеток. В основном, давление контролирует как скорость солюбилизации CO<sub>2</sub>, так и его полную растворимость в питательной среде. Поэтому более высокое давление усиливает солюбилизацию CO<sub>2</sub>, содействуя как подкислению внешней среды (шаг 1), так и контакту CO<sub>2</sub> с клетками (что облегчает шаг 2 механизма инаktivации и косвенно также шаги 3–6). Кроме того, CO<sub>2</sub> при более высоких давлениях проявляет более высокую сольватирующую способность, что также облегчает стадию 7 механизма деактивации. Стимулирующий эффект давления CO<sub>2</sub>, однако, не продолжается бесконечно и ограничивается растворимостью углекислого газа в питательной среде. Sims и Estigarribia (2003) [116] продемонстрировали, что выше 10 МПа растворимость CO<sub>2</sub> слабо зависела от давления. Увеличение давления от 10 до 30 МПа при 55–60°C не оказало существенного влияния на растворимость CO<sub>2</sub> в воде (говоря другими словами, на pH<sub>ex</sub>); однако с экономической точки зрения это значительно увеличивает как операционные, так и инвестиционные затраты.

Микробная инаktivация также чувствительна к применяемой температуре. В общем, скорость инаktivации увеличивается с повышением температуры (при прочих равных условиях). Высокая температура стимулирует диффузию  $\text{CO}_2$ , также может увеличить текучесть клеточной мембраны, чтобы сделать проникновение легче, таким образом, преимущественно стимулируя шаг 2 (и, вероятно, также шаг 7). Однако применение SC  $\text{CO}_2$  не следует эксплуатировать при температурах, значительно превышающих их критические температуры (конечно, в окрестности критического давления  $\text{CO}_2$ ), поскольку при сильном превышении температуры плотность растворителя и, следовательно, его способность к сольюбилизации уменьшается довольно быстро. Таким образом, стимулирующий эффект влияния температуры на  $\text{CO}_2$ -проникновение может частично противодействовать его ингибирующему эффекту на  $\text{CO}_2$ -растворимость. Воздействие SC  $\text{CO}_2$  не должно выполняться при слишком высоких температурах, поскольку это может ухудшить или испортить качество пищевых продуктов во многих случаях.

## ВОПРОСЫ

1. Как увеличение давления  $\text{CO}_2$  воздействует на инаktivацию микроорганизмов?
2. Чем ограничивается стимулирующий эффект давления  $\text{CO}_2$ ?

### 8.3.2. ВЛИЯНИЕ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ $\text{CO}_2$ НА ПРОЦЕСС

В зависимости от температуры и давления, обработка сжатым  $\text{CO}_2$  может проводиться либо в докритическом (жидком или газообразном), либо сверхкритическом состоянии. Несколько исследований систематизированы в таблицу 5 для сравнения эффективности докритического и сверхкритического  $\text{CO}_2$  для снижения популяции микробов, хотя проводились многочисленные эксперименты при разных агрегатных состояниях  $\text{CO}_2$ . Выводы этих исследований были единодушны: **сверхкритический  $\text{CO}_2$  был более эффективен при инаktivации клеток микробов, чем подкритический  $\text{CO}_2$ .** В последнее время Gunes et al. [117] получили аналогичный вывод в исследовании с применением трех агрегатных состояний  $\text{CO}_2$  в применении сверхкритической  $\text{CO}_2$ -инаktivации *E. coli* в разбавленном яблочном сидре.

Следует отметить, что влияние температуры и давления на инаktivацию *E. coli* было в значительной степени замаскировано соотношением  $\text{CO}_2$ /продукт, используемым в изучаемой проточной системе.

Повышенную микробную летальность сверхкритического  $\text{CO}_2$  можно отнести к его интересным физико-химическим свойствам, сверхкритическому состоянию. Сверхкритическое состояние вещества — это особое состояние, к которому даже при высоких давлениях едва ли приложимо понятие «жидкоподобное». В физическом смысле это скорее микрогетерогенная смесь газо- и жидкоподобных конфигураций молекул, быстро сменяющих друг друга.

Таблица 5

Влияние агрегатного состояния CO<sub>2</sub> на инактивацию микробов

Исследуемый микроорганизм	Раствор	Состояние CO <sub>2</sub>	Условия протекания процесса	Уменьшение концентрации микробов	Авторы
1	2	3	4	5	6
<i>Escherichia coli</i>	Физиологический раствор или дистиллированная вода	газ	4 МПа, 20°C, 120 мин	3,9 D	Kamihira (1987)
			4 МПа, 35°C, 120 мин	4,0 D	
		жидк.	10 МПа, 20°C, 120 мин	4,5 D	
			20 МПа, 20°C, 120 мин	4,4 D	
		сверхкр.	10 МПа, 35°C, 120 мин	4,2 D	
			20 МПа, 35°C, 120 мин	5,1 D	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Физиологический раствор или дистиллированная вода	газ	Содержание воды 65–75%		Kamihira (1987)
			4 МПа, 20°C, 120 мин	0,1 D	
		жидк.	4 МПа, 35°C, 120 мин	0,1 D	
			10 МПа, 20°C, 120 мин	0,3 D	
		сверхкр.	20 МПа, 20°C, 120 мин	0,9 D	
			10 МПа, 35°C, 120 мин	3,9 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Среда для выращивания клеток	газ	20 МПа, 35°C, 120 мин	6,3 D	Lin et al. (1992a)
			Содержание воды 65–75%		
		жидк.	6,9 МПа, 35°C, 15 мин	7 D	
			6,9 МПа, 25°C, 45 мин	4 D	
		сверхкр.	13,8 МПа, 25°C, 35 мин	4 D	
			20,7 МПа, 25°C, 60 мин	7 D	
			13,8 МПа, 35°C, 10 мин	7 D	
			20,7 МПа, 35°C, 7 мин	7 D	

1	2	3	4	5	6
<i>Leuconostoc dextranicum</i>	Среда для выращивания клеток	газ	6,9 МПа, 35°C, 20 мин	9 D	Lin et al. (1993)
		жидк.	6,9 МПа, 25°C, 40 мин	9 D	
		сверхкр.	20,7 МПа, 25°C, 35 мин	9 D	
<i>Lactobacillus brevis</i>	Физиологический раствор	сверхкр.	20,7 МПа, 35°C, 15 мин	9 D	Inshikawa et al. (1995)
		газ	5 МПа, 35°C, 15 мин	2 D	
		жидк.	7 МПа, 25°C, 15 мин	2 D	
		сверхкр.	25 МПа, 35°C, 15 мин	6 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Дистиллированная вода		Применение фильтра с порами 10-µm		
		газ	5 МПа, 35°C, 15 мин	3 D	
		жидк.	7 МПа, 25°C, 15 мин	2,5 D	
		сверхкр.	25 МПа, 35°C, 15 мин	5 D	
<i>Kloeckera apiculata</i>	Виноградный сок		Применение фильтра с порами 10-µm		Gunes et al. (2005)
		газ	6,9 МПа, 35°C, 5 мин	4 D	
		жидк.	27,6 МПа, 25°C, 5 мин	4,9 D	
			48,3 МПа, 25°C, 5 мин	5,2 D	
		сверхкр.	27,6 МПа, 35°C, 5 мин	5,2 D	
<i>Candida stellata</i>	Виноградный сок		48,3 МПа, 35°C, 5 мин	5,2 D	
			конц. CO <sub>2</sub> = 170 г/кг		
		газ	6,9 МПа, 35°C, 5 мин	6,5 D	
		жидк.	27,6 МПа, 25°C, 5 мин	2,8 D	
			48,3 МПа, 25°C, 5 мин	6,5 D	
		сверхкр.	27,6 МПа, 35°C, 5 мин	6 D	
			48,3 МПа, 35°C, 5 мин	6,5 D	
			конц. CO <sub>2</sub> = 170 г/кг		

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6
<i>S. cerevisiae</i>	Виноградный сок	газ	6,9 МПа, 35°C, 5 мин	3,3 D	Gunes et al. (2005)
		жидк.	27,6 МПа, 25°C, 5 мин	5,3 D	
			48,3 МПа, 25°C, 5 мин	5,3 D	
			27,6 МПа, 35°C, 5 мин	5,3 D	
		сверхкр.	48,3 МПа, 35°C, 5 мин конц. CO <sub>2</sub> = 170 г/кг	5,3 D	
<i>Нативные психротрофы</i>	Молоко	жидк.	20,7 МПа, 30°C, 10 мин	3,8 D	Werner and Hotchkiss et al. (1999)
		сверхкр.	20,7 МПа, 35°C, 10 мин	5,4 D	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Молоко	жидк.	20,7 МПа, 30°C, 10 мин	2,9 D	
		сверхкр.	20,7 МПа, 35°C, 10 мин конц. CO <sub>2</sub> = 132 г/кг	5,0 D	

Сверхкритический  $\text{CO}_2$  обладает более жидкоподобной плотностью, тогда как свойства массопереноса (т. е. вязкость и коэффициент диффузии) ближе к газовому. Плотность жидкости позволяет увеличить сольватирующую мощность по сравнению с газообразным состоянием. С другой стороны, газоподобные свойства массопереноса повышают скорость диффузии по сравнению с жидким состоянием. Кроме того, очень низкое поверхностное натяжение сверхкритического  $\text{CO}_2$  позволяет легко проникать в микропористые структуры. Таким образом, сверхкритический  $\text{CO}_2$  с этими улучшенными свойствами более эффективен, чем газообразный и жидкий  $\text{CO}_2$ , для проникновения в клетки и экстракции внутриклеточных компонентов (таким образом, положительно влияя на шаги 2 и 7 механизма инактивации соответственно), что приводит к увеличению распада, дефрагментации биосистем.

## ВОПРОСЫ

1. Как агрегатное состояние  $\text{CO}_2$  влияет на процесс микробной инактивации?
2. Как газоподобные свойства массопереноса воздействуют на скорость диффузии?

### 8.3.3. ВЛИЯНИЕ ПЕРЕМЕШИВАНИЯ

Перемешивание может усиливать солюбилизацию  $\text{CO}_2$  и его контакт с бактериальными клетками (см. шаги 1 и 2 механизма соответственно), что облегчает проникновение в клетки. Поэтому соответствующее перемешивание (взбалтывание) обычно улучшает микробную инактивацию сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Lin et al. [113], Hong et al. [114] и Dillow et al. [118] сообщили о важности перемешивания, но конкретных данных не было.

О значительном снижении скорости инактивации дрожжевых клеток без перемешивания сообщали Lin et al. [114]. Hong et al. [119] обнаружили, что микробная инактивация, по-видимому, зависит от размера образцов при отсутствии перемешивания. Они наблюдали повышение инактивации *Lactobacillus sp.* с уменьшением соотношения рабочего объема (т. е. соотношение объемов образца и объема реактора, выраженное в процентах).

### 8.3.4. ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВОДЫ

Микробная инактивация сильно зависит от содержания воды (или водной активности,  $a_w$ ) среды, в которой клетки суспендируют во время обработки сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Как показано в таблице 6, эксперименты с различным содержанием воды показали, что вегетативные клетки с низким содержанием воды были слабо инаktivированы и что их сопротивление инактивации увеличивалось с уменьшением содержания воды.

Влияние содержания воды и водной активности (aw) на устойчивость микробиологических клеток, обработанных сверхкритическим CO<sub>2</sub>

Исследуемый микроорганизм	Раствор	Содержание воды, aw	Условия протекания процесса	Уменьшение концентрации микробов	Авторы
1	2	3	4	5	6
<i>Escherichia coli</i>	Физиологический раствор или дистиллированная вода	2–10%	20 МПа, 35°C, 120 мин	1,3 D	Kamihira (1987)
		70–90%	20 МПа, 35°C, 120 мин	5,1 D	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Физиологический раствор или дистиллированная вода	2–10%	20 МПа, 35°C, 120 мин	1,4 D	
		70–90%	20 МПа, 35°C, 120 мин	4,8 D	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Физиологический раствор или дистиллированная вода	2–10%	20 МПа, 35°C, 120 мин	0,3 D	Taniguchi et al. (1987)
		70–90%	20 МПа, 35°C, 120 мин	6,3 D	
Естественная (азробная) микрофлора	Порошок свиной плазмы	6,80%	20 МПа, 35°C, 120 мин	0 D	
		16,50%	20 МПа, 35°C, 120 мин	1,3 D	
		30,70%	20 МПа, 35°C, 120 мин	2,3 D	
<i>E. coli</i>	Вода : глицерин				Haas et al. (1989)
	Соотношение 1 : 3	aw = 0,61	6,2 МПа, комн. температура, 120 мин	75,00%	
	Соотношение 3 : 1	aw = 0,91	6,2 МПа, комн. температура, 120 мин	99,96%	



1	2	3	4	5	6
<i>S. aureus</i>	Вода : глицерин				Haas et al. (1989)
	Соотношение 1 : 3	aw = 0,61	6,2 МПа, комн. температура, 120 мин	75,00%	
	Соотношение 3 : 1	aw = 0,91	6,2 МПа, комн. температура, 120 мин	99,96%	
	Питательная среда для выращивания клеток	aw = 0,94	5,5 МПа, 22°C, 120 мин	0 D	
<i>Staphylococcus sarrorhynchus</i>		aw = 0,98	5,5 МПа, 22°C, 120 мин	2 D	
Бактериальная микрофлора	Пшеничная мука	12%	6,2 МПа, 23°C, 120 мин	0%	
		28%	6,2 МПа, 23°C, 120 мин	99,6%	
		12%	6,2 МПа, 23°C, 120 мин	0%	
	Пшеничная мука	28%	6,2 МПа, 23°C, 120 мин	99,8%	
Естественная (азробная) микрофлора	Трава	Сухая	5,5 МПа, 45°C, 120 мин	0 D	
	Лук-резанец		5,5 МПа, 45°C, 120 мин	5,5 D	
	Тимьян		5,5 МПа, 45°C, 120 мин	7,5 D	
	Орегано	Свежий	5,5 МПа, 45°C, 120 мин	7,3 D	
	Петрушка		5,5 МПа, 45°C, 120 мин	8,3 D	
	Мята		5,5 МПа, 45°C, 120 мин	8,1 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Дистиллированная вода	< 40%	4 МПа, 40°C, 300 мин	< 0,5 D	Nakamura et al. (1994)
		> 60%	4 МПа, 40°C, 300 мин	8 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Вода	0,358	6 МПа, 40°C, 300 мин	1 D	Kumagai et al. (1997)
		2,286	6 МПа, 40°C, 240 мин	8 D	
		0,358	15 МПа, 40°C, 240 мин	4 D	
		2,286	15 МПа, 40°C, 240 мин	8 D	

Продолжение табл. 6

1	2	3	4	5	6
<i>E. coli</i>	Гидрофильные диски из фильтровальной бумаги	6%	5 МПа, комнатная температура, 300 мин	0,09 D	Debs-Louka et al. (1999)
		37%	5 МПа, комнатная температура, 300 мин	4,8 D	
		6%	5 МПа, комнатная температура, 300 мин	0,6 D	
		37%	5 МПа, комнатная температура, 300 мин	2,3 D	
<i>E. coli</i>	Питательная среда для выращивания клеток	Без воды	14 МПа, 34°C, 60 мин	8 D	Dillow et al. (1999)
		Вода предет.	14 МПа, 34°C, 30 мин	8 D	
<i>E. coli</i>	Хлопок	Сухой	7 МПа, 20°C, 15 мин	Маленький дезинфицирующий эффект	Schmidt et al. (2005)
		Напитанный водой	7 МПа, 20°C, 15 мин	Полная инактивация	

Более того, Haas et al. [120] предположили, что воздействие сверхкритического  $\text{CO}_2$  не будет применимо к сухим веществам. Напротив, Dillow et al. [121] достигли полной инактивации клеток *E. coli* в присутствии, а также при отсутствии воды при 14 МПа и 34°C. Однако кинетика стерилизации сильно пострадала при добавлении воды.

Kumugai et al. [122] проанализировали кинетику реакции *Saccharomyces cerevisiae* с различными уровнями содержания воды и давления  $\text{CO}_2$ . В первом приближении константа скорости стерилизации,  $k$ , была почти нулевой при содержании воды ниже 0,2 г/1 г сухого вещества, независимо от давления  $\text{CO}_2$ . Выше величины 0,3 г/г сухого вещества значение  $k$ , как правило, увеличивалось с увеличением содержания воды. Это увеличение было незначительным с содержанием воды выше 1 г/г сухого вещества. В этой области значение  $k$  росло с увеличением давления  $\text{CO}_2$  при идентичном водном содержании.

Причина, по которой наполненные водой микробные клетки более склонны к инактивации сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , вероятно, является прямым результатом увеличения сольюбилизации  $\text{CO}_2$  (и, следовательно, увеличения образования и диссоциации  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), что ведет к высвобождению большого количества ионов  $\text{H}^+$ , которые впоследствии уменьшают  $\text{pH}_{\text{ex}}$  суспендирующей среды до более низких значений (см. шаг 1 механизма инактивации). Кроме того, Lin et al. [113] отнесли синергетический эффект влияния воды на припухание клеточных стенок из-за присутствия воды, благодаря чему эти биологические барьеры расширяются, становясь более проницаемыми для  $\text{CO}_2$ , и, следовательно, положительно влияют на шаг 2 механизма инактивации.

### 8.3.5. ВЛИЯНИЕ СКОРОСТИ РАЗГЕРМЕТИЗАЦИИ

В ранний период исследований воздействия сверхкритического  $\text{CO}_2$  считалось, что микробные клетки разрушались под воздействием взрывной декомпрессии. Эта взрывная (или мгновенная) декомпрессия состоит из стадии повышения давления, чтобы сначала вызвать проникновение  $\text{CO}_2$  в микробные клетки, за которой следует последующий внезапный (мгновенный) сброс давления приложенного  $\text{CO}_2$  в суспендирующей среде, что приводит к быстрому расширению газа внутри клеток. Считается, что большая часть микробных клеток механически разрываются, как «выстреливший баллон» в момент взрывной декомпрессии из-за разбалансированности разности давлений внутри и вне клеток. В 1951 г. Фрейзер был первым, кто продемонстрировал разрушение бактериальных клеток (таких как *E. coli*) быстрым высвобождением давления газа с целью сбора содержимого клеток. Эффективность процедуры была протестирована на счетных пластинках и непосредственным микроскопическим наблюдением за неокрашенными бактериями (использование технологии Петрофф-Хаузера). Хотя механический разрыв, казалось бы, вызывал гибель клеток по предположению Фрейзера [123], другое физиологическое воздействие также не может быть полностью исключено, так как при использовании  $\text{CO}_2$  количество

жизнеспособных микроорганизмов всегда намного ниже, чем по методу прямого подсчета Петрофф-Хаузера. Вдохновленные работой Фрейзера, Фостер и коллеги [124] придумали декомпрессионную камеру для разрушения бактериальных клеток через взрывную декомпрессию. В данном устройстве 31–59% клеток *Serratia marcescens* были разрушены (о чем свидетельствует наличие легко отделяемых клеточных стенок при центрифугировании) после насыщения N<sub>2</sub> при давлении 12,0 МПа (авторы утверждали, что другие подходящие обеззараживающие газы, например CO<sub>2</sub>, также могут быть использованы).

Другие исследователи (Lin et al. [127]) также констатировали, что быстрая декомпрессия является параметром, который усиливает разрушение бактериальных клеток.

Совсем недавно Liu et al. [125] показали, что на жизнеспособность и биологическую активность *S. cerevisiae* (а также спор *Absidia coerulea*) оказал значительное влияние темп снижения давления CO<sub>2</sub> (7,5 МПа, 30°C, 30 и 90 мин). Хотя не было представлено прямых доказательств авторов, что клетки *S. cerevisiae* разрушаются при этих условиях, такое доказательство было представлено с помощью электронной микроскопии для спор *A. coerulea* (которые имеют более толстую наружную стенку), что косвенно предполагает, что снижение жизнеспособности клеток *S. cerevisiae* также (частично) коррелирует с механическим разрывом клеток.

Чтобы выяснить, являлся ли механический разрыв вследствие взрывной декомпрессии преобладающим инактивационным механизмом во время применения сжатого CO<sub>2</sub>, Enomoto et al. [126] впервые подвергли *S. cerevisiae* воздействию сжатого CO<sub>2</sub> (4,0 МПа, 40°C, 240 мин), а затем понижали давление с использованием двух разных скоростей декомпрессии (взрывной или медленной декомпрессии). Результаты исследований показали, что более стремительная декомпрессия не всегда приводила к увеличению инактивации, соответственно, взрывная декомпрессия не являлась основной причиной разрушения микробных клеток.

Поэтому авторы пришли к выводу, что большая часть клеток, по видимому, стерилизовалась во время повышения давления, а не во время стадии быстрого сброса.

Другие исследователи также утверждали, что скорость понижения давления (и последующее очень резкое падение давления) не оказала существенного влияния на микробное сокращение в экспериментальной установке.

В заключение представляется, что (при определенных условиях воздействия) разрушение клеток (вызванное быстрым высвобождением применяемого CO<sub>2</sub> под давлением) возможно с помощью воздействия сверхкритическим CO<sub>2</sub>. Дополнительные эффекты, такие как интенсивное локализованное охлаждение из-за эффекта Джоуля — Томсона, когда сжатый CO<sub>2</sub> расширяется, могут также играть некоторую роль в клеточном лизисе и, следовательно, в бактериальной инактивации во время резкой декомпрессии. Однако, хотя и механический разрыв клеток может быть причиной гибели некоторой части клеток, в основном другие физиологические механизмы участвуют в летальном воздействии сверхкритического CO<sub>2</sub>.

## **ВОПРОСЫ**

1. Из каких стадий состоит взрывная декомпрессия?
2. Приводит ли более стремительная декомпрессия к увеличенной деактивации?

### **8.3.6. ВОСПРИИМЧИВОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Микробная чувствительность в зависимости от вида к летальному воздействию сверхкритическим  $\text{CO}_2$  сильно различается. Однако трудно сделать качественное сравнение, так как в экспериментах используется различное оборудование, уровень воздействия на среду, разные штаммы, условия испытаний и т. д. Поэтому можно сравнить только различные штаммы в одном исследовании. Исследования приведены в таблице 7. В целом, грамположительные микроорганизмы, как ожидается, будут более устойчивыми, чем грамотрицательные из-за более толстой клеточной стенки. Хотя в основном это подтверждается, но есть множество исключений даже в рамках одного исследования, например, в исследованиях Dillow et al. [121].

### **8.3.7. ВЛИЯНИЕ НАЧАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ БАКТЕРИЙ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОБРАБОТКИ СВЕРХКРИТИЧЕСКИМ $\text{CO}_2$**

Эффективность воздействия сверхкритическим  $\text{CO}_2$  сильно зависит от начальной бактериальной нагрузки. При тех же условиях наибольшая степень инактивации получается с наименьшей начальной бактериальной концентрацией. Как следствие, при более высоких начальных бактериальных концентрациях требуется большее время воздействия для достижения такого же сокращения микроорганизмов. Высокие концентрации клеток, как представляется, создают условия дополнительного защитного действия для микробных клеток, которые оказываются менее подвержены воздействию  $\text{CO}_2$  под давлением. Напротив, с низкой начальной бактериальной нагрузкой микробные клетки более подвержены воздействию сверхкритического  $\text{CO}_2$  и, следовательно, более чувствительны к инактивации.

### **8.3.8. ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СУСПЕНДИРУЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Показатели инактивации сильно зависят от составляющих суспендирующей среды и качества продуктов во время воздействия сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Как показано в таблице 8, сильное защитное влияние для микробных клеток наблюдалось в комплексных физико-химических средах пищевых систем по сравнению с простыми растворами.

Восприимчивость различных видов бактерий к обработке сверхкритическим CO<sub>2</sub>

Исследуемый микроорганизм	Раствор	Вид микроорганизма	Условия протекания процесса	Уменьшение концентрации микробов	Авторы
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<i>Escherichia coli</i>	Физиологический раствор или дистиллированная вода	G-	20 МПа, 35°C, 120 мин, содержание воды 70–90%	5,1 D	Kamihira (1987)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		Дрожжи		6,3 D	
<i>Staphylococcus aureus</i>		G+		4,8 D	
<i>Lactobacillus brevis</i>		G+		6 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Физиологический раствор	Дрожжи	25 МПа, 35°C, 15 мин	5 D	Inshikawa et al. (1995)
<i>E. coli</i>	Фосфатно-буферный раствор	G-	31,03 МПа, 35°C, 40 мин	3,5 D	Sirisee et al. (1998)
<i>S. aureus</i>		G+	31,03 МПа, 35°C, 30 мин	7 D	
<i>E. coli</i>	Говяжий фарш	G-	31,03 МПа, 42,5°C, 180 мин	1 D	
<i>S. aureus</i>		G+	31,03 МПа, 42,5°C, 38 мин	1 D	
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Физиологический раствор	Дрожжи	6 МПа, 35°C, 15 мин, уровень потока CO <sub>2</sub> 3,0 кг/ч	2,5 D	Shimoda et al. (1998)
<i>S. cerevisiae</i>			6 МПа, 35°C, 15 мин, уровень потока CO <sub>2</sub> 1,0 кг/ч	5,7 D	
<i>Torulopsis versatilis</i>			6 МПа, 35°C, 15 мин, уровень потока CO <sub>2</sub> 2,0 кг/ч	6 D	

1	2	3	4	5	6
<i>E. coli</i>	Гидрофильные диски из фильтровальной бумаги	G-	5 МПа, комнатная температура, 420 мин	6 D	Debs-louka et al. (1999)
<i>Enterococcus faecalis</i>		G-	6 МПа, комнатная температура, 420 мин	2 D	
<i>S. cerevisiae</i>		Дрожжи		3 D	
<i>Listeria innocua</i>			20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 3 цикла	3 D	
<i>S. aureus</i>		G-	20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 6 циклов	9 D	Dillow et al. (1999)
			20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 3 цикла	3 D	
			20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 6 циклов	7 D	
			20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 3 цикла	3 D	
<i>Salmonella salford</i>	Среда для выращивания клеток		20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 3 цикла	3 D	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 6 циклов	3 D	
<i>E. coli</i>			20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 3 цикла	6 D	
<i>Proteus vulgaris</i>			20,5 МПа, 34°C, 30 мин, 3 цикла	8 D	
<i>Legionella chmifit</i>	Физиологический раствор	G-	20,5 МПа, 34°C, 36 мин, 3 цикла	8 D	
<i>P. aeruginosa</i>			20,5 МПа, 34°C, 90 мин, 6 циклов	4 D	
<i>Bacillus subtilis</i>			7,4 МПа, 38°C, 2,5 мин	7 D	Spilimbergo et al. (2002)
				7 D	

Продолжение табл. 7

1	2	3	4	5	6
<i>E. coli</i>	Стерилизованная вода	G-	20 МПа, 34°C, 10 мин	2,5 D	Spilimbergo et al. (2003b)
<i>S. aureus</i>		G+		3,5 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Фосфатно-буферный раствор	Дрожжи	7,4 МПа, 38–40°C, 10 мин	5,8 D	Spilimbergo et al. (2003c)
<i>Serratia marcescens</i>		G-		7,3 D	
<i>B. subtilis</i>		G+	7,4 МПа, 38–40°C, 2,5 мин	7,6 D	
<i>S. cerevisiae</i>	Виноградный сок	Дрожжи	48,3 МПа, 25°C, 5 мин, 85 г/кг CO <sub>2</sub>	5,1 D	Gunes et al. (2005)
<i>Candida stellata</i>				5,6 D	
<i>Kloeckera apiculata</i>				3,7 D	



Влияние составляющих суспендирующих сред на резистентность микробных клеток  
к инаktivации сверхкритическим CO<sub>2</sub>

Исследуемый микроорганизм	Раствор	Условия протекания процесса	Уменьшение концентрации микробов	Авторы
1	2	3	4	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	Дистиллированная вода	13,7 МПа, 35°C, 120 мин	9 D	Wei et al. (1991)
	Триптиказо-соевый бульон		9 D	
	Маркированное куриное мясо		1 D	
	Маркированное мясо креветки		1,5 D	
	Маркированный апельсиновый сок		2,5 D	
<i>Salmonella typhimurium</i>	Цельное яйцо	13,7 МПа, 35°C, 120 мин	Двукратное увеличение	Wei et al. (1991)
	Яичный желток		3 D	
	Маркированное куриное мясо		1 D	
	Цельное яйцо		0,06 D	
	Яичный желток		8,5 D	
<i>L. monocytogenes</i>	Яичный белок	6,9 МПа, 45°C, 8 мин	8,5 D	Lin et al. (1994)
	Питательная среда для выращивания клеток		9,9 D	
	Нежирное молоко с пониженным содержанием лактозы	6,9 МПа, 45°C, 60 мин	6,2 D	
	Молоко с пониженным содержанием жира		5,9 D	
	Нормализованное молоко		1 D	
	Белковый слой нормализованного молока	6,9 МПа, 45°C, 60 мин	4,9 D	
		20,7 МПа, 45°C, 60 мин	8,6 D	
		6,9 МПа, 45°C, 60 мин	4,8 D	
		20,7 МПа, 45°C, 60 мин	6,1 D	

1	2	3	4	5
<i>Escherichia coli</i>	Фосфатно-буферный раствор	31,03 МПа, 42,5°C, 10 мин	7 D	Sirisee et al. (1998)
	Говяжий фарш	31,03 МПа, 42,5°C, 180 мин	1 D	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Фосфатно-буферный раствор	31,03 МПа, 42,5°C, 10 мин	6,4 D	
	Говяжий фарш	31,03 МПа, 42,5°C, 38 мин	1 D	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ацетатно-буферный раствор (рН 4,5)	6,9 МПа, 30°C, 60 мин	8,9 D	Hong and Pyun (1999)
	Питательная среда для выращивания клеток де Мана — Рогозы — Шарпа (рН 4,5)		8,2 D	
	Стерилизованная вода (рН 6,0)		7,9 D	
	Фосфатно-буферный раствор (рН 7,0)	6,9 МПа, 30°C, 120 мин	7,3 D	
	Питательная среда для выращивания клеток де Мана — Рогозы — Шарпа с двууглекислой солью (рН 8)		0,3 D	
<i>S. typhimurium</i>	Физиологический раствор (рН 6,25)	6 МПа, 45°C, 12,5 мин	8 D	Erkmen (2000a)
	Физиологический раствор — 1% сердечно-мозговой вытяжки (рН 6,25)	6 МПа, 45°C, 70 мин	9 D	
	Физиологический раствор (рН 6,5)	6,05 МПа, 45°C, 5 мин	6 D	
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	Раствор сердечно-мозговой вытяжки (рН 6,5)	6,05 МПа, 45°C, 30 мин	6 D	Erkmen (2000b)
	Цельное молоко (рН 6,61)		0,4 D	
	Сепарированное молоко (рН 6,9)		1,9 D	
	Очищенная говядина	6,05 МПа, 45°C, 150 мин	5,9 D	
	Говяжий фарш		1,1 D	
	Апельсиновый сок (рН 4,89)	6,05 МПа, 45°C, 90 мин	5,5 D	
Естественная (азарная) микрофлора	Яблочный сок (рН 5,14)	6,05 МПа, 45°C, 120 мин	4,7 D	
	Цельное молоко (рН 6,61)	6,05 МПа, 45°C, 150 мин	0,7 D	
	Сепарированное молоко (рН 6,9)		2,7 D	
	Очищенная говядина	6,05 МПа, 45°C, 120 мин	3,9 D	

1	2	3	4	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	Говяжий фарш	6,05 МПа, 45°C, 150 мин	0,6 D	Erkmen (2000c)
	Апельсиновый сок (pH 4,89)	6,05 МПа, 45°C, 60 мин	3,0 D	
	Яблочный сок (pH 5,14)		2,8 D	
	Физиологический раствор (pH 6,15)	6,05 МПа, 45°C, 15 мин	8 D	
	Физиологический раствор + 1% сердечно-мозговой вытяжки (pH 6,15)	6,05 МПа, 45°C, 80 мин	8 D	
	Цельное молоко (pH 6,51)		5,8 D	
	Сепарированное молоко (pH 6,51)	6,05 МПа, 45°C, 960 мин	5,5 D	
	Морковный сок (pH 6,32)	6,05 МПа, 45°C, 480 мин	5,7 D	
	Апельсиновый сок (pH 3,25)	6,05 МПа, 45°C, 180 мин	5,9 D	
	Персиковый сок (pH 3,61)		6,0 D	
<i>Естественная (азобная) микрофлора</i>	Цельное молоко (pH 6,51)	6,05 МПа, 45°C, 1440 мин	5,8 D	Erkmen (2000d)
	Сепарированное молоко (pH 6,51)	6,05 МПа, 45°C, 960 мин	5,8 D	
	Морковный сок (pH 6,32)	6,05 МПа, 45°C, 480 мин	5,3 D	
	Апельсиновый сок (pH 3,25)	6,05 МПа, 45°C, 180 мин	4,3 D	
	Персиковый сок (pH 3,61)		4,6 D	
	Физиологический раствор (pH 6,80)	6 МПа, 45°C, 60 мин	7 D	
<i>L. monocytogenes</i>	Физиологический раствор + 1% сердечно-мозговой вытяжки (pH 6,80)	6 МПа, 45°C, 75 мин	7 D	Erkmen (2000d)
	Цельное молоко (pH 6,76)	6 МПа, 45°C, 1440 мин	6,9 D	
	Сепарированное молоко (pH 7,1)	6 МПа, 45°C, 960 мин	6,5 D	
	Морковный сок (pH 5,65)	6 МПа, 45°C, 720 мин	6,4 D	
	Апельсиновый сок (pH 3,98)	6 МПа, 45°C, 480 мин	6,8 D	
	Персиковый сок (pH 3,35)	6 МПа, 45°C, 240 мин	4,9 D	
<i>L. monocytogenes</i>	Яблочный сок (pH 3,58)	6 МПа, 45°C, 480 мин	6,2 D	Erkmen (2000d)

1	2	3	4	5
<i>Естественная (аэробная) микрофлора</i>	Цельное молоко (рН 6,76)	7 МПа, 45°C, 960 мин	4,6 D	Erkmen (2001a)
	Сепарированное молоко (рН 7,1)	6 МПа, 45°C, 360 мин	2,9 D	
	Морковный сок (рН 5,65)		3,9 D	
	Апельсиновый сок (рН 3,98)	6 МПа, 45°C, 240 мин	3,6 D	
	Персиковый сок (рН 3,35)	6 МПа, 45°C, 180 мин	3,8 D	
	Яблочный сок (рН 3,58)	6 МПа, 45°C, 300 мин	4,6 D	
<i>L. monocytogenes</i>	Физиологический раствор (рН 6,80)	6,05 МПа, 25°C, 35 мин	7 D	Erkmen (2001a)
	Сердечно-мозговая выгязка (рН 6,8)	6,05 МПа, 25°C, 115 мин	7 D	
	Питательный бульон (рН 6,75)	10 МПа, 30°C, 50 мин	7,5 D	
	Сепарированное молоко (рН 6,75)	10 МПа, 30°C, 360 мин	2,2 D	
	Цельное молоко (рН 6,45)	10 МПа, 30°C, 360 мин	1,2 D	
	Физиологический раствор (рН 6,25)	6 МПа, 45°C, 12 мин	5,5 D	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Физиологический раствор <sup>1</sup>	6 МПа, 45°C, 60 мин	5,5 D	Erkmen (2001d)
	1 <sup>0</sup> сердечно-мозговой выгязки (рН 6,25)			
	Цельное молоко (рН 6,52)	6 МПа, 45°C, 1440 мин	5,8 D	
	Сепарированное молоко (рН 6,64)	6 МПа, 45°C, 960 мин	5,8 D	
	Морковный сок (рН 5,65)	6 МПа, 45°C, 720 мин	5,6 D	
	Апельсиновый сок (рН 3,98)	6 МПа, 45°C, 480 мин	6,9 D	
	Персиковый сок (рН 3,35)	6 МПа, 45°C, 240 мин	4,7 D	
	Яблочный сок (рН 5,14)	6 МПа, 45°C, 480 мин	6,0 D	
	Цельное молоко (рН 6,52)	6 МПа, 45°C, 960 мин	4,9 D	
	Сепарированное молоко (рН 6,64)	6 МПа, 45°C, 360 мин	2,9 D	
<i>Естественная (аэробная) микрофлора</i>	Морковный сок (рН 5,65)	6 МПа, 45°C, 360 мин	3,8 D	Erkmen and Karaman (2001)
	Апельсиновый сок (рН 3,98)	6 МПа, 45°C, 240 мин	3,6 D	
	Персиковый сок (рН 3,35)	6 МПа, 45°C, 180 мин	3,9 D	
	Яблочный сок (рН 5,14)	6 МПа, 45°C, 300 мин	4,9 D	
	Физиологический раствор (рН 6,80)	7,56 МПа, 35°C, 15 мин	8 D	
	Сердечно-мозговая выгязка (рН 6,8)	7,56 МПа, 35°C, 75 мин	8 D	
<i>S. typhimurium</i>				

Lin et al. [127] объясняют повышенную устойчивость к инаktivации сверхкритическим CO<sub>2</sub> вегетативных клеток, суспендированных в комплексной физико-химической среде, липидными и жировыми компонентами среды. Они предположили, что присутствие жира при развитии и суспендировании среды, вероятно, привело к уменьшению проникновения CO<sub>2</sub> в клетки посредством изменения структуры клеточных стенок и мембран (таким образом, отрицательно влияя на шаг 2 механизма инаktivации).

Примечательное исключение из сильного защитного действия комплекса физико-химической пищевой среды найдено Wei et al. [128]. Они наблюдали двойной прирост бактериальной обсемененности зараженными листерией куриных яиц при воздействии сверхкритическим CO<sub>2</sub>, тогда как более 99% клеток *Listeria* в яичном желтке было разрушено. На данный момент не имеется никаких объяснений, почему воздействие CO<sub>2</sub> имело яркий бактерицидный эффект в яичном желтке по сравнению с целым яйцом.

Кроме того, равное количество бактерий, суспендированных в простых растворах с одинаковым начальным pH, не были инаktivированы при одинаковых условиях (табл. 8). Это может быть отнесено как к различным составляющим среды, так и к буферной емкости среды, предотвращающей дальнейшее снижение pH<sub>ex</sub> во время обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub>. Тот же эффект буферизации можно было наблюдать в более сложных субстратах. Spilimbergo et al. [100] в своей работе показали, что, хотя pH<sub>ex</sub> чистой воды сильно зависит от добавления CO<sub>2</sub> (снижение начального pH с 3,6 до 2,9 при 35°C и давлении более 8,0 МПа), эффект CO<sub>2</sub> в апельсиновом соке был полностью амортизирован (поддерживающий начальное значение pH около 3,5, даже после добавления CO<sub>2</sub> при тех же условиях). Этот момент можно объяснить присутствием других веществ в таких сложных субстратах (подразумевая, что CO<sub>2</sub> сильно влияет на pH<sub>ex</sub> в чистой воде, но не влияет на рассматриваемый апельсиновый сок). Однако следует отметить, что высокую эффективность инаktivации микроорганизмов можно было бы получить как в апельсиновом соке, так и в физиологическом растворе после обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub>. Таким образом, следует сделать вывод, что, по-видимому, только изменения pH<sub>ex</sub> не могут быть ответственны за микробное сокращение, другие механизмы также должны быть использованы для объяснения этого явления.

### **8.3.9. ВЛИЯНИЕ НАЧАЛЬНОГО pH СУСПЕНДИРУЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Начальный pH среды клеточной суспензии имеет значительное влияние на скорость инаktivации при воздействии CO<sub>2</sub> (табл. 9). Hong and Pyun [102] и Hong et al. [119] сообщали об увеличенной инаktivации микроорганизмов с более низким начальным pH клеточной суспензии. Пониженный pH, по-видимому, способствовал увеличению проницаемости клеток для облегчения проникновения CO<sub>2</sub> в клетки, что положительно влияет на шаг 2 механизма инаktivации.

Таблица 9

Влияние начального pH среды клеточной суспензии на восприимчивость микробиологических клеток при обработке CO<sub>2</sub>

Исследуемый микроорганизм	Раствор	Начальный pH	Условия протекания процесса	Уменьшение концентрации микробов	Авторы
1	2	3	4	5	6
<i>Staphylococcus carphrophyllicus</i>	Среда для выращивания клеток	5,0	5,5 МПа, 22°C, 120 мин	3,9 D	Haas (1989)
		7,0		2,4 D	
		9,0		0,7 D	
<i>Gluconobacter oxydans</i>	Среда для выращивания клеток	2,0	5,5 МПа, 22°C, 120 мин	5,5 D	
		3,0		4,1 D	
		4,0		3,0 D	
		5,0		3,0 D	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ацетатный буферный раствор	4,5	6,9 МПа, 30°C, 60 мин	8,9 D	Hong and Pyun (1999)
	Питательная среда для выращивания клеток де Мана — Рогозы — Шарпа	4,5	6,9 МПа, 30°C, 120 мин	8,2 D	
	Дистиллированная вода	6,0		7,9 D	
	Фосфатно-буферный раствор	7,0		7,3 D	
	Питательная среда для выращивания клеток де Мана Рогозы Шарпа с двууглекислой солью	8,0		0,3 D	

Продолжение табл. 9

1	2	3	4	5	6
<i>L. plantarum</i>	Питательная среда для выращивания клеток де Мана — Рогозы — Шарпа	4,5	6,9 МПа, 30°C, 60 мин	6 D	Hong et al. (1999)
			10,3 МПа, 30°C, 60 мин	7 D	
			13,4 МПа, 30°C, 40 мин	7 D	
	Фосфатно-буферный раствор	7,0	6,9 МПа, 30°C, 60 мин	5,5 D	
			10,3 МПа, 30°C, 60 мин	6,9 D	
			13,4 МПа, 30°C, 40 мин	6,9 D	
<i>Escherichia coli</i>	Питательный бульон (рН 6,75)	4,5	10 МПа, 30°C, 95 мин	7,5 D	Erkmen (2001b)
		5,5	10 МПа, 30°C, 80 мин	7,5 D	
		6,75	10 МПа, 30°C, 50 мин	7,5 D	

Однако следует отметить, что результаты Hong and Pyun [102] трудно сравнивать из-за различных видов суспендирующих сред, используемых в экспериментах. В противоположность этим сообщениям, Erkmen [129] наблюдал противоположный эффект с понижением pH суспендирующей среды. Для этого «неожиданного» наблюдения пока нет четкого объяснения.

### 8.3.10. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И СТАДИИ РОСТА КЛЕТОК

Другие важные аспекты, которые могут влиять на микробную инактивацию, — это условия роста клеток и фазы роста клеток. В общем случае клетки в стационарной фазе являются более устойчивыми к давлению, чем клетки в фазе логарифмического роста. Hong и Pyun [110] подтвердили это положение, наблюдая более высокую инактивацию клеток *L. plantarum* в поздней логарифмической фазе при обработке сверхкритическим CO<sub>2</sub>, используя давление 6,9 МПа при 30°C, по сравнению со стационарной фазой. Эти авторы объясняют повышенную устойчивость зрелых клеток способностью бактерий при входе в стационарную фазу роста синтезировать дополнительные белки, которые защищают клетки от различных неблагоприятных условий.

Хотя эта гипотеза доказана только для повышения теплового сопротивления клетками в стационарной фазе, она должна быть дополнительно проверена при воздействии CO<sub>2</sub>. Также Hong и Pyun [110] наблюдали устойчивость клеток *L. plantarum* к инактивации, когда они были культивируемы при температурах ниже их оптимальной температуры. По мнению этих исследователей, этот вывод можно отнести к различиям в значениях pH культурального бульона. В противовес данному исследованию, Lin et al. [113] заметили, что клетки *Leuconostoc dextranicum* более чувствительны к воздействию CO<sub>2</sub> при культивировании при оптимальной температуре, хотя разница была небольшой.

### 8.3.11. МЕТАБОЛИЧЕСКИ ПОВРЕЖДЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Микроорганизмы, подвергающиеся воздействию окружающей среды, получают метаболическую травму, что приводит к их неспособности формировать селективные среды колоний, которые могут терпеть неповрежденные клетки. Количество почти летально поврежденных бактерий может определяться разницей между подсчетами, полученными в неселективной и селективной среде. Этот принцип был использован Hong and Pyun [102] — определить степень сублетального повреждения, вызванного воздействием CO<sub>2</sub> на микробные клетки. В этих исследованиях подсчеты в неселективной среде были выше, чем в селективной среде, указывая, что клетки, обработанные сверхкритическим CO<sub>2</sub>, подвергаются серьезной травме.

Существование метаболически поврежденных клеток имеет два основных последствия. Во-первых, поврежденные клетки не могут быть обнаружены, когда используются избирательные условия для подсчета выживших, что приво-



дит к переоценке летальности воздействия. Во-вторых, появление поврежденных клеток имеет большое значение для патогенных клеток и микроорганизмов, вызывающих порчу пищевых продуктов, поскольку при соответствующих обстоятельствах эти клетки могут восстанавливаться в пище и вызывать пищевые отравления или порчу пищи.

### **8.3.12. ЭФФЕКТ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Комбинация обработки сверхкритическим  $\text{CO}_2$  с сохранением других техник обработки, например пастеризацией импульсным электрическим полем без нагревания (PEF) или сверхвысоким давлением (ННР), также была исследована (табл. 10). Этот подход, обычно известный как «технология преодоления препятствий», может усилить летальный эффект нетепловой обработки и уменьшить тяжесть нетеплового воздействия, необходимого для получения определенного уровня микробной инактивации. Как показано в таблице 10, может наблюдаться синергетический эффект при комбинированной обработке.

### **8.3.13. ВОЗНИКНОВЕНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К ВОЗДЕЙСТВИЮ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО $\text{CO}_2$ МУТАНТОВ**

Одна из основных проблем новых технологий сохранения (например, ННР и  $\text{SC CO}_2$ ) для пищевой промышленности — это появление вегетативных бактерий, которые становятся устойчивыми к инактивации после нескольких циклов инактивирования.

До сих пор практически нет информации о способности оставшихся жизнеспособных микроорганизмов становиться устойчивыми к инактивации  $\text{SC CO}_2$  после нескольких обработок. Hong et al. [119] подвергали культивируемые изоляты, полученные из субфракций клеток *L. plantarum*, обработанных при длительном воздействии 13,8 МПа и 30°C, снова обработке  $\text{SC CO}_2$  в тех же условиях. Наблюдалась небольшая разница в чувствительности к  $\text{SC CO}_2$  (по сравнению с оригинальной культурой). Однако дальнейшее исследование повторного воздействия  $\text{SC CO}_2$  на выжившие популяции микроорганизмов абсолютно необходимо для определения возможной адаптации микроорганизмов к инактивации  $\text{SC CO}_2$ , поскольку это может создать потенциальный риск для продовольственной безопасности продуктов, обработанных  $\text{SC CO}_2$ .

## **8.4. ИНАКТИВАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ГРИБКОВЫХ СПОР**

### **8.4.1. ТОЛЬКО $\text{SC CO}_2$ («ЧИСТЫЙ» $\text{SC CO}_2$ )**

Несмотря на то что в научной литературе много сообщений об инактивации с помощью  $\text{SC CO}_2$  микроорганизмов в вегетативной форме, воздействие только  $\text{SC CO}_2$  при умеренной температуре (20–40°C) часто недостаточно для значительного сокращения количества жизнеспособных спор.

Таблица 10

**Комбинации обработки CO<sub>2</sub> под высоким давлением с нетепловыми методами  
для инактивации бактериальных клеток в вегетативном состоянии**

<b>Вид летального воздействия на микробную среду</b>	<b>Исследуемый микроорганизм</b>	<b>Раствор</b>	<b>Условия протекания процесса</b>	<b>Уменьшение концентрации микробов</b>	<b>Авторы</b>
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + пастеризация сверхвысоким давлением (ННР)	<i>Аэробная микрофлора</i>	Морковный сок	CO <sub>2</sub> (4,9 МПа, 3°C, 10 мин)	4 D	Park et al. (2002)
			ННР (300 МПа, 25°C, 5 мин)	3 D	
			CO <sub>2</sub> (4,9 МПа, 35°C, 10 мин) + ННР (300 МПа, 25°C, 5 мин)	8 D	
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + импульсным электрическим полем без нагревания (PEF)	<i>Escherichia coli</i>	Физиологический раствор	PEF (10 пульсаций 25 кV/см)	2,9 D	Spilimbergo et al. (2003b)
			CO <sub>2</sub> (20 МПа, 34°C, 10 мин)	2,5 D	
			CO <sub>2</sub> (20 МПа, 34°C, 10 мин) + PEF (10 пульсаций 25 кV/см)	8,5 D	

Продолжение табл. 10

1	2	3	4	5	6
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Физиологический раствор	PEF (10 пульсаций 25 кV/см)	3,3 D	
			CO <sub>2</sub> (20 МПа, 34°C, 10 мин)	3,5 D	
			CO <sub>2</sub> (20 МПа, 34°C, 10 мин) + PEF (10 пульсаций 25 кV/см)	7,8 D	

Некоторые исследования указывали, что воздействие SC CO<sub>2</sub> может инактивировать бактериальные споры в относительно большей степени. В одном из этих исследований, Ishikawa и его коллеги [130] сообщали о 3,5–4-десятикратном уменьшении спор *Bacillus* при воздействии микроскопических пузырьков CO<sub>2</sub> (подаются через микрофильтр), давлении 30 МПа, температуре 40°C, времени инактивации 30 мин. Увеличение коэффициента инактивации (по сравнению с воздействием без фильтра) объясняется увеличением концентрации CO<sub>2</sub> в суспензии спор и, следовательно, повышенным количеством CO<sub>2</sub>, сорбированного клетками.

Spilimbergo et al. [106], который также использовал установку SC CO<sub>2</sub> с фильтром 5 мкм для образования микропузырьков, не наблюдал значительного сокращения спор *B. subtilis* (регистрировалось примерно десятикратное сокращение) при обработке даже при 54°C и 20 МПа в течение 60 мин. Furukawa et al. [131] предположил, что относительно высокий коэффициент инактивации, полученный Ishikawa et al. [130], был из-за высокого коэффициента прорастания бактериальных спор при обработке SC CO<sub>2</sub>. В исследовании, подтверждающем эту гипотезу, Furukawa et al. [131] смогли продемонстрировать, что даже при умеренной температуре (35°C) нагнетание CO<sub>2</sub> действительно инициировало прорастание спор (что делает их более чувствительными к воздействию SC CO<sub>2</sub>). Однако, хотя прорастание бактериальных спор имело место, инактивация спор *Bacillus coagulans* и *Bacillus licheniformis* не превышала десятикратное уменьшение при воздействии SC CO<sub>2</sub> при 35°C и 30 МПа в течение 120 мин.

Spilimbergo et al. [106] на основе этих результатов сделали заключение, что воздействие чистого сжатого CO<sub>2</sub> при умеренных температурах (например, менее 60°C для *B. subtilis*) недостаточно для стимуляции прорастания и, следовательно, инактивации скрытых форм микроорганизмов в объеме, необходимом для стерилизации пищевых продуктов.

#### 8.4.2. КОМБИНИРОВАННЫЕ ПРОЦЕДУРЫ

Чтобы справиться с этим важным недостатком SC CO<sub>2</sub>, были предложены различные варианты воздействия на инактивацию спор и в частности изучалось воздействие повышенной температурой. Обзор исследуемых комбинаций для инактивации спор с помощью SC CO<sub>2</sub> приведен в таблице 11. Несколько исследований показывают, что можно значительно уменьшить количество спор с помощью комбинаций мягкого нагрева и SC CO<sub>2</sub> (Ishikawa et al. [130]; Ballestra and Cuq [132]).

Enomoto et al. [126] наблюдали, что максимальный бактерицидный эффект при инактивации спор *Bacillus megaterium* с использованием SC CO<sub>2</sub> оказался зависим от давления и был применен в течение 24 ч при 5,9 МПа и температуре 60°C. Более высокий и более низкий уровень давления CO<sub>2</sub> приводил к снижению бактерицидного эффекта.

Таблица 11

Комбинированное воздействие для инактивации бактериальных и грибковых спор с помощью сверхкритического CO<sub>2</sub>

Комбинируемое воздействие	Исследуемый микроорганизм	Раствор	Условия протекания процесса	Уменьшение концентрации микробов	Авторы
1	2	3	4	5	6
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + тепловое воздействие	<i>Bacillus megaterium</i>	Дистиллированная вода	5,9 МПа, 60°C, 1440 мин	5,8 D	Enomoto et al. (1997a)
			5,7 МПа, 60°C, 1800 мин	7 D	
	<i>Bacillus pabulum</i>	Физиологический раствор	30 МПа, 45°C, 60 мин	6 D	Ishikawa et al. (1997)
			30 МПа, 60°C, 30 мин	6 D	
			30 МПа, 55°C, 60 мин	6 D	Ishikawa et al. (1997)
	<i>Bacillus subtilis</i>	Раствор Рингера	5 МПа, 80°C, 60 мин	3,5 D	Ballestra and Cuq (1998)
		Физиологический раствор	7 МПа, 75°C, 1440 мин	7 D	Spilimbergo et al. (2002)
			7 МПа, 75°C, 120 мин	7 D	Spilimbergo et al. (2003a)
			9 МПа, 60°C, 360 мин	7 D	
	<i>Bacillus cereus</i>		30 МПа, 50°C, 60 мин	6 D	Ishikawa et al. (1997)

1	2	3	4	5	6
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + тепловое воздействие	<i>Bacillus cereus</i>	Физиологический раствор	30 МПа, 60°C, 30 мин	6 D	
	<i>Byssoschlamys fulva</i> (ascospores)	Раствор Рингера	5 МПа, 80°C, 85,5 мин	1 D	Ballestra and Cuq (1998)
			5 МПа, 85°C, 14,1 мин	1 D	
	<i>Penicillium roqueforti</i> (condida)	Среда для выращивания клеток	5,4 МПа, 45°C, 120 мин, pH 3,5	5 D	Haas et al. (1989)
			5,4 МПа, 45°C, 240 мин, pH 3,5	6 D	
	<i>Aspergillus niger</i>	Физиологический раствор	19 МПа, 46°C, 1,7 мин	3 D	Shimoda et al. (2002)
			19 МПа, 48°C, 1,8 мин	5 D	
			19 МПа, 50°C, 1,5 мин	6,8 D	
	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	Дистиллированная вода	30 МПа, 95°C, 120 мин	5 D	Watanabe et al. (2003a)
	<i>Bacillus coagulans</i>		6,5 МПа, 35°C, 10 мин, с после- дующей термо- обработкой в течение 30 мин, 90°C	6 D	Watanabe et al. (2003b)

1	2	3	4	5	6
	<i>Bacillus licheniformis</i>	Дистиллированная вода	6,5 МПа, 35°C, 10 мин, с после- дующей термо- обработкой в течение 30 мин, 90°C	6 D	Watanabe et al. (2003b)
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + циклическое изменение давления	<i>B. cereus</i>	Среда для выращивания клеток	20,5 МПа, 60°C, 120 мин, 6 циклов ( $\Delta P \geq 10$ МПа)  20,5 МПа, 60°C, 240 мин, 6 циклов ( $\Delta P \geq 10$ МПа)	5 D  8 D	Dilow et al. (1999)
	<i>B. subtilis</i>	Физиологический раствор	15 МПа, 36°C, 30 мин, 20 циклов/ч ( $\Delta P = 8$ МПа)  15 МПа, 50°C, 60 мин, 6 циклов/ч ( $\Delta P = 11$ МПа)	2 D  1,1 D	Spilimbergo et al. (2003a)
	<i>Clostridium sporogenes</i>	Среда для выращивания клеток	5,4 МПа, 70°C, 120 мин, pH 2,5  5,4 МПа, 70°C, 120 мин, pH 3  5,4 МПа, 70°C, 120 мин, pH 4	7,8 D  7,5 D  0,8 D	Haas et al. (1989)
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + кислая среда					

Продолжение табл. 11

1	2	3	4	5	6
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + импульсное электрическое поле	<i>B. cereus</i>	Физиологический раствор	20 МПа, 40°C, 900 мин воздействия импульсным электрическим полем (PEF), 20 импульсов по 25 кВ/см	1,5 D	Spilimbergo et al. (2003b)
			20 МПа, 40°C, 1440 мин воздействия импульсным электрическим полем (PEF), 20 импульсов по 25 кВ/см	3 D	
Сверхкритический CO <sub>2</sub> + пероксид водорода	<i>Bacillus pumilus</i>	Полоски для контроля эффективности процесса стерилизации	27,5 МПа, 50°C, 240 мин с 200 ppm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	4,6 D	Zhang et al. (2006)
			27,5 МПа, 60°C, 120 мин с 200 ppm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	4,5 D	
			27,5 МПа, 60°C, 240 мин с 200 ppm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6,3 D	



Авторы выдвинули гипотезу о том, что зависящее от давления агрегирование (скопление) клеток спор, которое может ингибировать летальный эффект CO<sub>2</sub> при высоком давлении, может быть возможным объяснением.

Хотя повышенное сгущение спор *Bacillus* с увеличением времени воздействия CO<sub>2</sub> было недавно продемонстрировано Furukawa et al. [133], об этой инактивации, зависящей от давления, было сообщено только один раз, и объяснение несовершенно.

В 2002 г. было сообщено, что кинетика гибели спор *Aspergillus niger* (выраженная как время сокращения в десять раз, *D*) была линейно связана с температурой и концентрацией растворенного CO<sub>2</sub>. Также отмечено, что наблюдалось значительное взаимодействие между этими двумя параметрами.

Watanabe et al. [134] также установили, что скорость инактивации спор *Geobacillus stearothermophilus* путем обработки CO<sub>2</sub> при 30 МПа увеличивается пропорционально температуре обработки (от 35 до 95°C). Основываясь на экспериментально полученных значениях и энергии активации, полученные результаты указывают, что увеличение скорости инактивации зависело больше от диапазона высоких температур (от 75 до 95°C), чем для более низкого температурного диапазона (от 35 до 65°C).

Ballestra и Cuq [132] было предложено, что, так как обнаружены две прямые части графика Аррениуса при воздействии CO<sub>2</sub>, инактивация бактериальных спор, по-видимому, происходит в два отдельных шага. Первый шаг отражает проникновение CO<sub>2</sub> в клетки (что происходит одновременно с тепловой активацией неактивных спор), а второй шаг соответствует инактивации проросших спор. Поэтому ожидается, что споры *G. stearothermophilus*, которые проросли во время воздействия CO<sub>2</sub>, будут более эффективно инактивироваться при температуре от 85 до 95°C, чем при более низкой температуре.

Более того, Watanabe et al. [134] показали, что споры *G. stearothermophilus* были более эффективно инактивированы с помощью SC CO<sub>2</sub> (30,0 МПа, 95°C, 120 мин), чем при нагревании (95°C, 120 мин) и воздействии сверхвысоким давлением ННР (30,0 МПа, 95°C, 120 мин).

Watanabe et al. [134] достигли увеличения летальности, подвергая споры *B. coalugans* и *B. licheniformis* воздействию SC CO<sub>2</sub> и последующей термообработке. Споры обоих видов были инактивированы на 50% больше в комбинированном воздействии по сравнению с термообработкой, что позволяет сделать вывод, что SC CO<sub>2</sub> значительно снижает термостойкость бактериальных спор.

Dillow и его коллеги [135] представили в разработке метод воздействия SC CO<sub>2</sub> для инактивации спор, по аналогии с методом ННР (сверхвысокое давление). Исследование метода ННР показало, что резкие перемены давления также могут вызвать прорастание спор в процессе их инактивирования. Поэтому в комбинированном воздействии Dillow et al. [135] изменяли давление CO<sub>2</sub> циклически во время обработки SC CO<sub>2</sub>, чтобы обеспечить движущую силу массопереноса CO<sub>2</sub>. При умеренной температуре (34–36°C) воздействие SC CO<sub>2</sub> в сочетании с изменением давления не является эффективным для инактивации спор *Bacillus cereus* и *B. subtilis*.

Применение циклов давления при повышенной температуре 50°C также не оказывало существенного влияния на выживаемость жизнеспособных клеток *B. subtilis*. Только циклическое изменение давления с достаточно высокой температурой (60°C) оказалось достаточно эффективным условием для полной инактивации (8-десятичное сокращение) спор *B. cereus* (Dillow et al.) [135]. Кроме того, эффективность CO<sub>2</sub> под давлением для инактивации спор также зависит от pH и от активности воды (**aw**) в среде воздействия. Антимикробный эффект SC CO<sub>2</sub> повышался при кислом pH, но понижался с уменьшением активности воды (**aw**) (Ballestra and Cuq [132]).

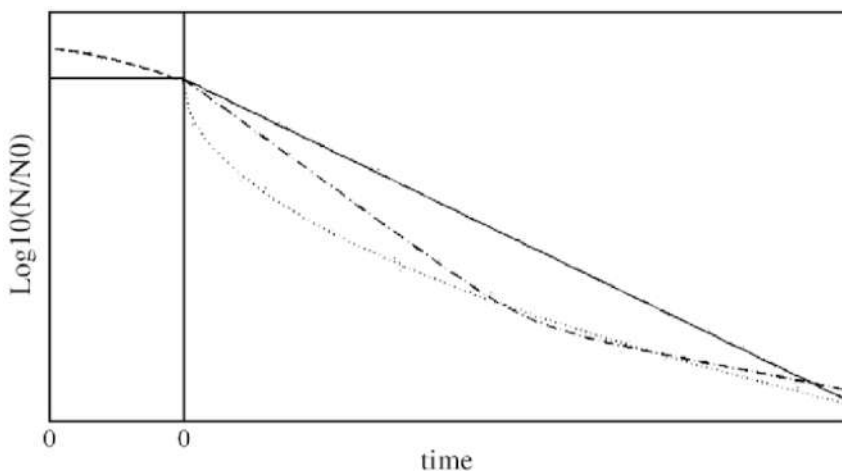
Понижающий эффект **aw** можно объяснить уменьшением количества CO<sub>2</sub>, солюбилизованного в водной фазе, следовательно, произойдет снижение количества «активных» антимикробных форм CO<sub>2</sub> в клетке. Совсем недавно был введен новый комбинированный подход Spilimbergo et al. [136], который исследовал синергетический эффект SC CO<sub>2</sub> с пастеризацией импульсным электрическим полем без нагревания (PEF) при низкой температуре (40°C). Несмотря на то что наблюдался синергетический эффект между PEF и SC CO<sub>2</sub>, было необходимо относительно длительное время воздействия (1440 мин) для уменьшения количества латентных (спор) клеток.

Другие комбинированные методы воздействия, которые часто предлагаются, — это воздействие сверхвысоким давлением (ННР), добавление низина, лактопероксидазы или лизоцима в пищевые продукты до воздействия SC CO<sub>2</sub>. Однако до сих пор не было опубликовано ни одного исследования, в котором увеличение летальности для инактивации спор при воздействии SC CO<sub>2</sub> было предпринято путем добавления высоких концентраций антимикробных пептидов и ферментов природного происхождения. На данный момент имеется только одна журнальная публикация Zhang et al. [137], где упомянуто про использование пероксида водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) в небольших количествах в сочетании с SC CO<sub>2</sub> для инактивации бактериальных спор. Экспериментальные результаты показали, что комбинированное воздействие SC CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (27,5 МПа, 60°C, 240 мин, 200 ppm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) может дезактивировать споры *Bacillus pumilus* более чем на 6 log.

## 8.5. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ КРИВЫХ ВЫЖИВАЕМОСТИ ВО ВРЕМЯ ОБРАБОТКИ СВЕРХКРИТИЧЕСКИМ CO<sub>2</sub>

Во время инактивации вегетативных микроорганизмов с помощью сверхкритического CO<sub>2</sub> обычно наблюдаются несколько типов кривых выживаемости, схематически представленных на рисунке 34.

В научной литературе наблюдается несколько форм выживания (перечислены ниже), но идентификация кривизны основывалась на визуальном контроле, а не на статистических данных.



**Рис. 34**

Схематическое изображение часто наблюдаемых кривых выживаемости во время инактивации сверхкритическим  $\text{CO}_2$ .

Правая панель: прямо пропорциональные кривые (полная линия), двухфазные кривые (штрих-пунктирная линия) и вогнутые кривые (пунктирная линия).

Левая панель: в некоторых случаях также можно наблюдать начальную задержку (так называемые «плечики», проявляющиеся как форма полной линии или пунктирной линии), в этом случае предшествует одной из кривых выживаемости, представленных на правой панели, поэтому нулевой момент времени сдвинут влево [144]

В настоящее время существуют несколько простых инструментов (например, GInaFIT), чтобы сделать быстрый тест, какая микробиологическая модель выживаемости точно описывается кривой выживаемости, если имеются достаточные экспериментальные данные. Возможны два объяснения для возникновения разных видов инактивации микроорганизмов:

1) трудно отличить двухфазные кривые от вогнутых кривых, поскольку форма кривой инактивации базируется на количестве экспериментальных данных. Когда доступно достаточное количество данных, кривая выживаемости может быть вогнутой. Когда кривая выживаемости состоит из меньшего количества экспериментальных данных, она может выглядеть как двухфазная или даже прямо пропорциональная. Более того, возможно, что некоторые кривые инактивации, которые проявляются как вогнутые, являются результатом способа предоставления данных: несколько точек кривой можно считать (искусственно) установленными на пороге обнаружения;

2) форма кривой инактивации зависит от интервалов времени инактивации, что принимается во внимание при оценке формы этой кривой. Данное положение иллюстрируется следующим примером: Hong и Pyun [110] отметили две кажущиеся различными формы кривой инактивации в эксперименте, когда клетки *L. plantarum* подвергались воздействию сверхкритического  $\text{CO}_2$  при раз-

личных давлениях. При 5 МПа и 30°C кривая выживаемости была прямо пропорциональной с так называемым «плечом» (см. левую часть графика на рисунке 34). Когда давление было увеличено до 7 МПа, кривая выживаемости приобрела вогнутый вид. Приращение давления (и, возможно, применяемые интервалы выборки) привели к отсутствию «плеча» при давлении 7 МПа. Различные формы кривой инактивации могут быть объяснены количеством экспериментальных данных и временем инактивации, при которых сравнивались обе кривые инактивации. При 7 МПа микробная инактивация, превышающая 8-десятичную, была получена через 120 мин, тогда как при 5 МПа инаktivирование клеток *L. plantarum* было 4-десятичное. Чтобы получить более точную форму кривой инактивации при 5 МПа, необходимо больше экспериментальных данных. Как показали Hong и Ryun [211], когда длительность воздействия была продлена, в результате чего были получены данные и после 120 мин, наблюдалась вогнутая кривая с «плечом» вместо прямо пропорциональной кривой с «плечом» при 5 МПа и 30°C.

Имея в виду вышеупомянутые проблемы интерпретации кривых выживаемости, можно перечислить следующие наблюдения из научной литературы.

1. Прямолинейные кривые выживаемости наблюдали, например, при инактивации *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *S. cerevisiae*, а также для инактивации спор *B. subtilis* (Ballestra и Cuq) [132]. Двухфазные кривые наблюдаются более редко. Вогнутые кривые наблюдали Kamihira et al. [138] для инактивации *E. coli* и *S. cerevisiae*, Ishikawa et al. [130] для инактивации *S. cerevisiae* (хотя число точек данных — четыре на кривой — ограничивает истинную классификацию), а также Hong и Ryun [102, 110], как обсуждалось выше.

2. В некоторых случаях наблюдается начальная задержка, предшествовавшая снижению, как показано в левой части графика на рисунке 2 (Lin et al. [127]; Hong et al. [119]). В этом случае предыдущий этап, характеризующийся медленной скоростью инактивации, может рассматриваться как «плечо», после чего происходит быстрая инактивация вегетативных клеток на втором этапе. «Плечо» представляет период, который регулируется, в основном, скоростью проникновения CO<sub>2</sub> в клетки, что, вероятно, ограничивает скорость инактивации.

## **8.6. ВЛИЯНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВЕРХКРИТИЧЕСКИМ CO<sub>2</sub> НА КАЧЕСТВО И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ**

### **8.6.1. ЖИДКИЕ ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ**

В большинстве опубликованных работ основное внимание уделяется микробной инактивации сразу после воздействия сверхкритическим CO<sub>2</sub>. Очень мало информации известно о воздействии на органолептические и пита-

тельные свойства жидких продуктов питания сразу после воздействия сверхкритическим  $\text{CO}_2$  и далее, при хранении в холодильнике. Так же мало исследована (долгосрочная) микробиологическая устойчивость обработанных сверхкритическим  $\text{CO}_2$  продуктов на время их хранения.

#### **8.6.1.1. ВЛИЯНИЕ НА ФИЗИЧЕСКИЕ, ХИМИЧЕСКИЕ И СЕНСОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Было проведено сравнительно немного исследований по изучению и сравнению физических, химических и сенсорных характеристик жидких пищевых продуктов после обработки сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Наблюдения, о которых было сообщено, иногда противоречат друг другу и зависят от вида пищевых продуктов. В большинстве исследований по сокам обработка сверхкритическим  $\text{CO}_2$  не вызывала обнаруживаемое изменение pH после воздействия. Только Park et al. [139] сообщали об уменьшении pH в обработанных образцах. Градус Брикса и титруемая кислотность не изменялись после воздействия, хотя Argeola et al. [140] сообщали о тенденции к снижению общей кислотности после воздействия сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Аналогичные наблюдения за инструментально измеренными уровнями цвета продукта были сообщены Argeola et al. [140] и Park et al. [139]. Осветленность и желтизна обработанных образцов увеличились, тогда как покраснение уменьшилось после воздействия. Яркость, с другой стороны, существенно не изменилась при хранении в охлажденном месте.

Обработка сверхкритическим  $\text{CO}_2$  может также улучшить физические качества жидких пищевых продуктов. Argeola et al. [140] и Balaban et al. [141] измеряли уменьшение помутнения обработанных сверхкритическим  $\text{CO}_2$  соков по сравнению с необработанными образцами. Кроме того, Argeola et al. [140] и Balaban et al. [141] было замечено, что отсутствие помутнения соков оранжевого цвета, обработанных сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , было сохранено и после хранения в холодильнике. Поскольку Argeola et al. [140] наблюдали остаточную активность по восстановлению пектинэстеразы во время хранения, сохранение, улучшение и стабилизация помутнения не были вызваны энзимной инактивацией. В противовес этим экспериментам Park et al. [139] сообщили о 60% уменьшении помутнения в обработанных сверхкритическим  $\text{CO}_2$  морковных соках. Еще одно улучшение, заслуживающее упоминания, — это эффект воздействия сверхкритического  $\text{CO}_2$  на потемнение (изменение окраски на бурую) яблочного сока. Обработка сверхкритическим  $\text{CO}_2$  привела к значительному снижению степени потемнения в соках при условии дальнейшего хранения при 4°C по сравнению с необработанными образцами, что указывает на то, что обработка сверхкритическим  $\text{CO}_2$  могла бы эффективно предотвращать такой негативный эффект, как потемнение яблочного сока.

В нескольких исследованиях была проведена органолептическая оценка с участием экспертов для лучшего понимания потребительской перспективы и приемов обработки продуктов сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Органолептический ана-

лиз проводили на свежих образцах (необработанных) и соках, обработанных сверхкритическим  $\text{CO}_2$  с использованием: 1) различного контроля; 2) классифицирования тестов. Первый тест был применен для определения разницы между контрольным образцом сока и обработанным сверхкритическим  $\text{CO}_2$  образцом сока, а рейтинговый тест дал информацию о предпочтениях потребителей. Кроме того, также были проведены эксперименты с органолептическим анализом термически пастеризованных образцов. Органолептическая оценка показала, что обработанные сверхкритическим  $\text{CO}_2$  соки были неотличимы от необработанных образцов. Не определялось существенной разницы во вкусе, аромате и общем соответствии требованиям этих образцов. Обработанные сверхкритическим  $\text{CO}_2$  соки были лучше по качеству и, таким образом, более привлекательными органолептически, чем термически пастеризованные образцы сока.

#### **8.6.1.2. ВЛИЯНИЕ НА ПИТАТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

Хотя питательные свойства обработанных сверхкритическим  $\text{CO}_2$  соков недостаточно изучены, некоторое улучшение характеристик наблюдалось после воздействия сверхкритическим  $\text{CO}_2$ . Argeola et al. [140] наблюдали значительно более высокое содержание аскорбиновой кислоты в апельсиновом соке, обработанном сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , чем в контрольных образцах, пастеризованных термически. Del Pozo-Insfran et al. [142] не наблюдали существенных изменений в совокупном количестве антоцианинов, растворимых фенолов и суммарного содержания антиоксидантов в соке из мускатного винограда, обработанном сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , тогда как термически пастеризованные образцы показали снижение на 16, 26 и 10% соответственно. Кроме того, соки, обработанные сверхкритическим  $\text{CO}_2$ , сохранили более высокий общий уровень антоцианинов, общее количество растворимых фенолов и суммарное содержание антиоксидантов, чем термически пастеризованные соки после 10 недель хранения при температуре  $4^\circ\text{C}$ .

#### **8.6.1.3. ВЛИЯНИЕ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ**

Park et al. [139] провели исследование сроков хранения для оценки влияния комбинированной обработки сверхкритическим  $\text{CO}_2$ /сверхвысоким давлением на микробиологическую чистоту замороженных морковных соков. Во время хранения при  $4^\circ\text{C}$  не наблюдалась реактивация аэробных бактерий в обработанном сверхкритическим  $\text{CO}_2$  морковном соке, в то время как в контрольных образцах содержалось  $8,4 \log \text{КОЕ/мл}$  через 4 недели. Kincal et al. [143] выполнили исследования сроков хранения для оценки воздействия «чистым» сверхкритическим  $\text{CO}_2$  на бактериальный рост при охлажденном апельсиновом соке.

Хотя оба исследования хранения трудно сравнивать из-за различных методов воздействия, Kincal et al. [143] наблюдали увеличение количества бактерий в обработанном апельсиновом соке во время хранения в охлажденном месте. Были даны два возможных объяснения: 1) могли иметь место повреждение и процесс репарации с помощью микроорганизмов или 2) могло произойти повторное заражение, хотя были предприняты большие асептические усилия. Del Pozo-Insfran et al. [142] наблюдали сопоставимые количества микробов между обработанными сверхкритическим CO<sub>2</sub> и термически пастеризованными соками из мускатного винограда в течение первых 5 недель хранения при температуре 4°C. Количество общих аэробных микроорганизмов не изменялось во время хранения для обоих видов пастеризации.

### 8.6.2. ТВЕРДЫЕ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ

Очень мало опубликованных исследований использовали сверхкритический CO<sub>2</sub> для обработки твердых пищевых продуктов (табл. 12). По сравнению с жидкими пищевыми продуктами применение обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub> на твердых продуктах является более сложным в отношении микробиологической безопасности, физических показателей и пищевой ценности.

Таблица 12

#### Примеры качественных наблюдений для твердых продуктов после обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub>

Вид пищевой продукции	Результаты наблюдений	Авторы
Мясо цыпленка и креветки	Изменение цвета. Приготовленный внешний вид. Вытеснение жидкости	Wei et al. (1991)
Цельные овощи и фрукты	Обширное повреждение тканей	Haas et al. (1989)
Говяжий фарш	Изменение цвета. Приготовленный внешний вид	Sirisee et al. (1998)
Капуста кимчи	Повышение pH. Понижение титруемой кислотности. Без значительных изменений цвета, вкуса и текстуры	Hong and Park et al. (1999)
Семена люцерны	Никаких существенных изменений в скорости прорастания	Mazzoni et al. (2001)

Как правило, требуется продолжительное время воздействия для достижения значительной микробной инактивации из-за: 1) взаимодействия пищевых ингредиентов и объективных факторов и 2) более ограниченной диффузии CO<sub>2</sub> в твердые матрицы и клетки пищевых продуктов, поскольку отсутствует

перемешивающий механизм. Следовательно, есть вероятность того, что органолептические свойства продукта могут быть подвергнуты неблагоприятному воздействию. Кроме того, поскольку  $\text{CO}_2$  высокого давления часто используется для экстракции в пищевой промышленности, воздействие сверхкритическим  $\text{CO}_2$  на твердые пищевые продукты, возможно, подвергнет экстракции основные пищевые соединения (см., например, Wei et al. [128]). Эта экстракционная проблема значительно меньше для жидкостных продуктов, которые сохраняются в емкости в статике, за исключением летучих соединений (Lin et al. [113]). Когда используется аппаратура для безостановочного процесса, экстракты могут быть извлечены и возвращены обратно в обработанную жидкость.

## **8.7. ДОВЕДЕНИЕ РАЗРАБОТКИ ДО ПРОМЫШЛЕННОГО ВНЕДРЕНИЯ**

Пастеризация сверхкритическим  $\text{CO}_2$  жидких пищевых продуктов функциональна, и разработка технологии близка к использованию в коммерческих масштабах. Большая часть усилий по внедрению в промышленное производство до сих пор были выполнены Praxair Inc. (Burr Ridge, IL, США). Основываясь на технологии, лицензированной в Университете Флориды, Praxair разработал безостановочный процесс и систему, которая использует обработку сверхкритическим  $\text{CO}_2$  как нетермическую альтернативу термической пастеризации. Эта система была выдвинута на рынок под торговой маркой «Лучше, чем свежие» (Better Than Fresh (BTF)).

На сегодняшний день Praxair построил для демонстрационных целей четыре мобильных комплекса BTF для обработки со скоростью около 1,5 л/мин. Кроме того, был также построен производственный комплекс со скоростью обработки 150 л/мин и протестирован на апельсиновом соке на перерабатывающем заводе во Флориде.

Для безостановочной обработки жидких пищевых продуктов было также изготовлено пилотное оборудование Mitsubishi Kakoki Co. (Токио, Япония) согласно патентам, принадлежащим Shimadzu Co. (Киото, Япония) (Osajima et al., 1993, 1996). Данное оборудование состояло из обрабатывающего сосуда 5,8 л, через который  $\text{CO}_2$  и жидкие продукты питания одновременно перекачивались при максимальных скоростях потока 3,0 и 20 кг/ч, соответственно. В 2003 г. это оборудование было доступно только для исследований в лабораториях в Японии (частное сообщение, Shimadzu Belgium).

На основе собственного патента (Sims, 1999), PoroCrit LLC (Беркли, Калифорния, США) также разработали промышленное оборудование (мембранный контактный фильтр, состоящий из нескольких мембранных модулей, состоящих из полого волокна) для непрерывной пастеризации сверхкритическим  $\text{CO}_2$  жидких пищевых продуктов (в основном напитков, соков, молока и вина). К сожалению, PoroCrit, похоже, захватила все коммерческие виды деятельности в данной новой отрасли.



## 8.8. ВЫВОДЫ И БУДУЩИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ В РАЗРАБОТКЕ НОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Научные коллективы, работающие в сфере пищевых наук и технологий, увлечены бесконечной борьбой против патогенных факторов в пище и порчи микроорганизмами пищевых продуктов и часто обнадеживают заслуживающими внимание результатами экспериментов *in vitro*. В последние два десятилетия были разработаны эксперименты *in vitro* по сохранению и консервации пищевой продукции с помощью обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub> и достигнуты значительные успехи в данной области. Большинство перспективных возможностей и негативных факторов в технологии обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub> приведены в таблице 13.

Таблица 13

### Важные возможности и недостатки технологии обработки сверхкритическим CO<sub>2</sub>

Положительные стороны рассматриваемого процесса	Потенциально возможные отрицательные стороны
Естественный внешний вид	Механизм инактивации не совсем ясен
Высокие органолептические свойства продукции	Экстракция/взаимодействие с пищевыми ингредиентами
Споры могут быть инактивированы в сочетании с другими видами обработки: например, термообработкой, пульсовыми колебаниями давления, кислотной средой	Необходимо дополнительно исследовать возникновение мутантов-микроорганизмов, устойчивых к обработке сверхкритическим CO <sub>2</sub>
Технология применима для кислотных продуктов	Требуемые условия инактивации зависят от типа пищевых продуктов и типа инактивируемых микроорганизмов
Усовершенствованное оборудование было разработано для других целей (например, экстракции, фракционирования)	Крупные инвестиционные затраты
Возможна непрерывная обработка жидких пищевых продуктов	Проблемы, связанные с обработкой твердых продуктов (прерывистый характер процесса, ограниченная диффузия CO <sub>2</sub> , упаковка после обработки и пр.)

В течение нескольких лет обработка сверхкритическим CO<sub>2</sub> может стать одной из наиболее доступных новых технологий. Однако, чтобы соответствовать высоким ожиданиям, потребители и другие заинтересованные стороны должны быть убеждены в положительных сдвигах, которые предоставляет эта новая технология. Это потребует новых убедительных данных и предоставле-

ния четкой, объективной и беспристрастной информации, включая потенциально негативные аспекты технологии и ее ограничения.

Кроме того, для того чтобы возможно заменить другие методы сохранения пищевой продукции, обработка сверхкритическим  $\text{CO}_2$  должна не только улучшать качество пищи, но и повысить срок хранения и (долгосрочную) безопасность путем инактивации патогенных микроорганизмов. Поэтому необходимы дальнейшие исследования для демонстрации и объяснения влияния обработки пищевых продуктов сверхкритическим  $\text{CO}_2$  на срок хранения и безопасность продуктов. Кроме того, важно, чтобы было более тщательно изучено влияние обработки сверхкритическим  $\text{CO}_2$  на органолептические свойства и пищевую ценность как жидких, так и твердых продуктов питания.

Также необходимо оценить экономическую эффективность процесса. Наконец, надо заметить, что так как пастеризация сверхкритическим  $\text{CO}_2$  имеет большой потенциал для повышения безопасности и качества пищевых продуктов, надо доработать некоторые технологические и регулирующие барьеры (например, дальнейшую оптимизацию процесса, освоение в промышленных масштабах, приобретение наиболее полных данных об органолептических свойствах и сроках хранения, сертификацию качества и т. д.), что по-прежнему необходимо прежде чем новые технологии смогут получить эти преимущества.

## **8.9. РЕГУЛИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ МАТРИЦЕ**

В отличие от синтетических энзимных реакций в присутствии  $\text{SC CO}_2$ , где акцент падает на сохранение ферментов в условиях сверхкритической экстракции, дезактивация ферментов с использованием  $\text{CO}_2$  при повышенных давлениях предназначена, чтобы обнулить их активность, для сохранения свойств пищевых продуктов, которые способствуют рыночному признанию товара потребителями и увеличению срока годности.

Несколько примеров — дезактивация оксидаз полифенола, которая вызывает изменение окраски на бурую на овощах и фруктах, появление постороннего привкуса из-за сокращения активности липоксигеназы, потемнение фруктовых соков, вызванное пектинэстеразой, и изменение цвета в продуктах из-за пероксидазы. Дезактивация пищевого фермента в присутствии  $\text{SCF}$  может произойти из-за изменения pH в флюиде, окружающем фермент, изменения изоэлектрической точки компонентов протеина, так же как и конформационные эффекты, которые влияют на дезактивацию фермента. Опасения по поводу влияния pH на определенные продукты, например молочные продукты или витаминное содержание продовольственных субстратов, имеют аргументацию для замены  $\text{SC CO}_2$  на сверхкритическую закись азота.

Относительно избавления от внутриклеточных агентов, таких как вирусы, прионы и токсичные бактериофаги, процессы в пищевой промышленности, ис-

пользующие ультравысокое давление, — вероятно, лучший выбор, хотя он требует давлений в диапазоне 300–600 МПа. Однако ранее отмеченная сверхкритическая экстракция ультравысоким давлением может также иметь профилактическое действие против микробов и ферментную дезактивацию и, следовательно, также увеличивает срок годности экстракта, предназначенного для использования в пище. Конечно, выгода в объединении воздействия  $\text{CO}_2$  во время SFE на стерилизацию и срок годности экстрактов может считаться предпосылкой в тестировании повторной экстракции полученного экстракта.

## 9. ЭФФЕКТИВНОСТЬ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ В БОЛЕЕ ШИРОКОМ КОНТЕКСТЕ

Во всем мире сейчас существует более 150 SFE-заводов, каждый с полным объемом экстрагирования более чем 500 L. Многие из этих заводов работают над сверхкритической экстракцией натуральных продуктов, приводя к восстановлению продуктов более высокой стоимости. Сегодня такие процессы, как сверхкритическая экстракция (SFE) и сверхкритическое фракционирование (SFF) ориентируются на экстракты или продукты с намного более высокой добавленной стоимостью, чем использовала технология SCF за прошедшие 40 лет. Они включают продукты, предназначенные для производства БАД или введения в функциональные продукты. Примеры этих тенденций — SFE и SFF специализированных липидов из масел семян высокой стоимости и микроводорослей, которые содержат полиненасыщенные жирные кислоты. Наконец, в будущем SFE и SFF больше не будут производиться как одномоментные операции, а как интегрированные единицы одного процесса, в сочетании с дополнительными процессами разделения, такими как мембранная сепарация, реакторы высокого давления или интегрированное формирование микрочастиц.

Таким образом, можно сделать **общие выводы**.

1. Антиоксидантный фолдинг, используя сверхкритическую флюидную технологию, был коммерчески осуществлен и получит дальнейшее развитие из-за его важности в применении к натуральным продуктам при производстве биологически активных добавок и функциональных продуктов питания.

2. Применение SFE к морским водорослям и полученным из морских водорослей продуктам будет находиться в фокусе внимания.

3. В будущем видится многократное использование сверхкритических жидкостей и объединение процессов, базирующихся на использовании технологий сверхкритических жидкостей, как и увеличение использования в производстве пищевых продуктов и пищевых матриц.

4. Многочисленные процессинговые установки продолжают внедряться во всем мире, вследствие чего на многих пищевых и натуральных продуктах появляется обозначение SFE и SC-CO<sub>2</sub> на этикетках.

### **Будущие проблемы.**

1. Оптимизирование непрерывных обрабатывающих систем SCF (сверхкритического фракционирования), таких как измельчители, экструдеры и другие, основанные на противотоке, будет важно с точки зрения увеличивающегося производства.

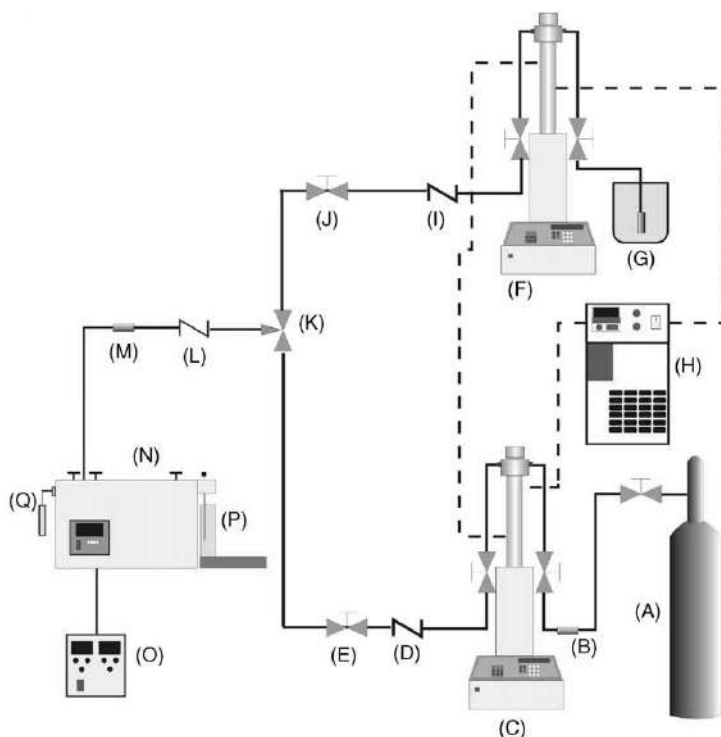
2. Удаление остаточных растворителей и ядов из еды и натуральных продуктов, используя сверхкритический CO<sub>2</sub>, должно быть изучено далее относительно новых нормативных требований.

3. В будущем потребуется сравнение оценки стоимости и анализа жизненного цикла для технологий SCF против конкурентоспособных технологий, что сделают дополнительные научные исследования в этой области.

4. Производственному масштабу SFC нужно дальнейшее развитие с точки зрения его применения к производству биологически активных концентратов для натуральных продуктов или продовольственного рынка функционального питания.

5. Экстракция против условий реакции по производству функциональных пищевых ингредиентов, использующих подкритические жидкости, такие как вода. Требуются дальнейшие исследования с точки зрения получения биологически активных компонентов.

## 10. ОПИСАНИЕ РАБОТЫ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО ЭКСТРАКТОРА THAR SFC, S. N. 3526551 (США)



**Рис. 35**

Схема аппарата сверхкритической экстракции (SFE):

- A — баллон CO<sub>2</sub>; B, M — фильтры; C — насос помпы;  
D, L, I — запорные клапаны; E, J — задвижки; F — насос дозатора;  
G — емкость модификатора с действующим фильтром;  
H — охладитель/калькулятор; K — смешивание;  
N — блок измерения; O — ограничитель [148].



**Рис. 36**

Экстракционная установка Thar SFC, используется для исследования характеристик сверхкритических экстракций, давления, температуры

В режиме экстракции сверхкритический  $\text{CO}_2$  подается в охлаждающий змеевик, в котором поддерживается температура до  $-5^\circ\text{C}$ , и в сжиженном состоянии с помощью насоса высокого давления нагнетается в сосуд для экстракции. Далее происходит нагрев диоксида углерода до нужной температуры, а для поддержания давления в системе на выходе из экстрактора установлен регулятор обратного давления. Таким образом в системе создается необходимое давление и температура, и углекислота переходит в сверхкритическое состояние. Внутри экстрактора располагается емкость, в которой находятся экстрагируемые материалы. Экстракт, растворенный в диоксиде углерода, покидает емкость и попадает в конденсатор, который установлен для защиты регулятора обратного давления от перегрева. Далее извлекаемый продукт попадает в сепаратор, а проходящий газ выбрасывается в атмосферу.

В некоторых случаях для улучшения растворимости экстрагируемых материалов может быть полезно добавление сорастворителей, для этих целей к системе подключается дополнительный дозирующий насос.

**Технические характеристики сверхкритического экстрактора Thar SFC, S. N. 3526551 (США).**

- Объем: 50 мл ~ 2 л.
- Расчетное рабочее давление: 600 бар.
- Расчетная температура:  $0\sim 500^\circ\text{C}$ .
- Рабочее давление: 400 бар.
- Нагреватель: 0,5~5 кВт.
- Поддерживающая стойка: нижняя.
- Датчик давления и предохранительный клапан: 0–650 бар.

**Модуль охлаждения.**

- Температурный диапазон:  $-25\sim 80^{\circ}\text{C}$ .
- Производительность насоса: 14 л/мин.
- Резервуар: 14 л/мин.
- Охлаждение: 210 BUT —  $7^{\circ}\text{C}$ .
- Нагревание: 1200 W.

**Регулятор обратного давления.**

- Давление: 14~700 бар.
- Вход и выход: 1/4" NPT.
- Материалы: 316 нержавеющей сталь.
- Точность:  $\pm 10\%$ .

**Сепаратор.**

- Объем: 1000 мл ~ 2 л.
- Материалы: 316 нержавеющей сталь.
- Расчетное давление: 500 бар при  $100^{\circ}\text{C}$ .

**Конденсатор.**

- Тип: раковина и труба.
- Расчетное давление: 800 бар при  $200^{\circ}\text{C}$ .
- Материалы: 316 нержавеющей сталь.

**Насос для подачи  $\text{CO}_2$ .**

- Распыление: 10 мл/мин.
- Давление: 0~800 бар.
- Материалы: 316 нержавеющей сталь.
- Подсоединение: 1/4~1/8" NPT(F).



## 11. СПРАВОЧНЫЕ ДАННЫЕ

**Таблица биологически активных веществ,  
выделенных в последнее время  
с помощью сверхкритических флюидных технологий**

<b>Наименование компонента</b>	<b>Описание</b>
<b>Акорин (гликозид акорин)</b>	Усиливает рефлекторное отделение желудочного сока. Повышает возбудимость окончаний вкусовых нервов, желчевыделительную функцию печени, тонус желчного пузыря и диурез
<b>Азарон (терпеноид азарон)</b>	Успокаивающе влияет на центральную нервную систему, в эксперименте оказывает противосудорожное, противоаритмическое, спазмолитическое, бронхолитическое действие
<b>Эфирное масло аира</b>	Обладает антимикробной активностью в отношении ряда микроорганизмов, в частности ассоциации микробов зубо-десневых карманов у больных пародонтозом, задерживает рост стафилококков, эшерихий, оказывает фунгистатическое действие, оказывает противовоспалительное действие, понижает, а затем нормализует проницаемость кровеносных сосудов в очаге воспаления
<b>ПНЖК (полиненасыщенные жирные кислоты (витамин F))</b>	Обладают антиоксидантной активностью, замедляют старение, препятствуют опухолевому росту. Укрепляют липидные пласты рогового слоя, способствуют сохранению целостности защитного барьера кожи, его непроницаемости для микробов и токсических веществ, предупреждению обезвоживания кожи
<b>Сквален (тритерпен сквален)</b>	Является сильнейшим противоопухолевым веществом и естественным компонентом человеческой кожи (до 12–14%), способен легко всасываться и проникать внутрь организма, ускоряя при этом проникновение растворенных в косметическом средстве веществ. Обладает смягчающими, бактерицидными, ранозаживляющими, антиоксидантными свойствами
<b>Анетол</b>	Используется в пищевой промышленности как вкусо-ароматическая добавка с анисовым вкусом для различных продуктов питания и напитков. Обладает антисептическим, бактерицидным, ветрогонным, отхаркивающим, фунгицидным, стимулирующим пищеварение действием

Наименование компонента	Описание
<b>Метилхавикол</b>	Обладает обезболивающим, противосудорожным, фунгицидным, спазмолитическим, ветрогонным действием, активность в профилактике раковых заболеваний, стабилизирует нервную систему благодаря антиспазматическим свойствам
<b>Стерины (фитостерины)</b>	Являются спиртами, содержащими 28–30 углеродных атомов. К ним принадлежат $\beta$ -ситостерин, стигмастерин, эргостерин, кампестерин, спинастерин и др. Обладают противовоспалительными, антиаллергическими, противоотечными, обезболивающими свойствами
<b>Дубильные вещества</b>	Являются безазотистыми ароматическими веществами. Состоят из полифенолов, флавоноидов и танинов. Обладают вяжущими, противовоспалительными, кровоостанавливающими и бактерицидными свойствами
<b>Терпеноиды</b>	Являются кислородосодержащими органическими соединениями, углеродный состав которых образован из изопреновых звеньев. Обладают болеутоляющими, противовоспалительными, антигельминтозными, антимикробными, антивирусными, антифунгальными, антигистаминными, противоревматическими, гипотензивными, противоопухолевыми, противоартритными, диуретическими, отхаркивающими, седативными, спазмолитическими, холагенными, слабительными свойствами
<b>Эфирное масло березы (лист)</b>	Обладает мочегонным, кровоочистительным, противовоспалительным, ранозаживляющим действием, применяется для лечения кожных заболеваний
<b>Витамин Е (токоферолы)</b>	Обладает противовоспалительным действием, антиоксидантной активностью, участвует в биосинтезе белков, пролиферации клеток, тканевом дыхании, других важнейших процессах тканевого метаболизма; препятствует повышенной проницаемости и ломкости капилляров, развитию атеросклероза, дегенеративно-дистрофических изменений в сердечной мышце и скелетной мускулатуре; защищает клетки и ткани от повреждающего действия избыточных количеств свободных радикалов и перекисных продуктов; стимулирует синтез белков и коллагена; нормализует репродуктивную функцию
<b>Витамин РР (никотиновая кислота)</b>	Обладает вазодилататорным, сосудорасширяющим действием, нормализует содержание липопротеинов крови, ангиопротектор, корректор микроциркуляции, снижает уровень общего холестерина
<b>Бетулин (тритерпеноид бетулин)</b>	Обладает противовирусным, антибактериальным, противогрибковым, противовоспалительным, антиоксидантным, регенерирующим, увлажняющим, антиаллергическим действием, замедляет процессы старения кожи

Наименование компонента	Описание
<b>Гиперозид</b>	Обладает кардиотоническим действием, усиливает сократительную деятельность миокарда, кровообращение в венечных сосудах сердца и сосудах мозга, снижает возбудимость центральной нервной системы, содержание холестерина в крови
<b>Флавоно-гликозиды</b>	Обладают болеутоляющим, противовоспалительным, антибактериальным, антиоксидантным, противотромботическим и антидиабетическим свойствами. Защищают капилляры, стимулируют мозговое кровообращение, расширяют сосуды головного мозга
<b>Эфирное масло гвоздики</b>	Обладает тонизирующим, ветрогонным действием
<b>Юглон</b>	Является сильным природным консервантом. Обладает антиоксидантным, противоопухолевым, антисептическим, общеукрепляющим действием
<b>Кофеин</b>	Является выраженным стимулятором нервной системы. Повышает энергетический обмен. Обладает общеукрепляющими, тонизирующими, стабилизирующими свойствами. Широко применяется в антицеллюлитных кремах
<b>Кумарин</b>	Обладает противосудорожным, фотосенсибилизирующим, антикоагулянтным, спазмолитическим действием, улучшает мозговое и периферическое кровоснабжение и кровообращение органов брюшной полости
<b>Флавоноиды</b>	Обладают спазмолитическим, бактерицидным, желчегонным действием, уменьшают ломкость капилляров и блокируют воспалительные процессы, которые часто наблюдаются при чувствительной и аллергической коже
<b>Гиперицин</b>	Обладает противовоспалительными, противомикробными, вяжущими, кровоостанавливающими, репаративными, противоаллергическими и общеукрепляющими свойствами
<b>Эфирное масло имбиря</b>	Мощное противовоспалительное и антибактериальное средство, эффективное при острых респираторных заболеваниях, ангинах, бронхитах. Обладает высокой противовирусной и противогрибковой активностью. Устраняет повышенную утомляемость, вялость, апатию, усиливает коммуникабельность и обаяние
<b>Цингерол</b>	Получаемый из имбиря, обладает очень жгучим пряным вкусом. Употребляется для производства ликеров, печенья. Добавляется в пудинги, различные сладости, компоты из груш, консервированные тыкву и огурцы. Используется при изготовлении мармелада, желе и засахаренных фруктов и производстве мясной продукции

Наименование компонента	Описание
<b>Каротиноиды</b>	Обладают антиоксидантной активностью, способствуют предотвращению предраковых и возрастных повреждений, радиационных поражений, сердечно-сосудистых заболеваний
<b>Эфирное масло кардамона</b>	Оказывает антисептическое, антиспазматическое, возбуждающее, ветрогонное, мочегонное, стимулирующее, общеукрепляющее, отхаркивающее, желудочное, потогонное действие. Широко используется при приготовлении мясных изделий (вареных, сырокопченых и ливерных колбас), рыбных и кондитерских изделий, входит в состав высших сортов ликеров, а также использовании при консервировании овощей, фруктов, рыбы
<b>Эсцин (эсцин-триглицерид)</b>	Уменьшает проницаемость капилляров, стимулирует антитромбическую активность сыворотки крови, усиливает кровенаполнение вен, особенно если в них имеются патологические изменения. Понижает вязкость крови
<b>Ретинол (витамин А)</b>	Способствует быстрому заживлению ран, нормальному развитию хрящевой и костной тканей. Является основным компонентом процесса обновления кожи, волос и ногтей. Поддерживает защитные функции кожи и слизистой оболочки, повышает активность ферментов клеток кожи, улучшает ее эластичность и общее состояние
<b>Эфирное масло кориандра (основной компонент — линалоол)</b>	Обладает желчегонным, болеутоляющим, антисептическим, противогеморройным, отхаркивающим и повышающим аппетит свойствами. Используется в пищевой промышленности как вкусо-ароматическая добавка при производстве мясной продукции, рыбных консервов, масложировой продукции
<b>Эфирное масло корицы</b>	Способствует пищеварению, вызывает аппетит и укрепляет желудок. Оказывает антисептическое, антиоксидантное, противовоспалительное, отхаркивающее, болеутоляющее действие. Используется в пищевой промышленности как вкусо-ароматическая добавка при производстве кондитерских изделий
<b>Эфирное масло лавра (основной компонент — цинеол)</b>	Используется в пищевой промышленности как вкусо-ароматическая добавка при производстве овощных, рыбных консервов, мясной продукции
<b>Схизандрол</b>	Обладает тонизирующим действием, применяется при переутомлении, пониженной физической и умственной работоспособности, истощении нервной системы, половой слабости, для повышения остроты зрения, при лечении нервных и психических заболеваний и для заживления плохо заживающих ран

Наименование компонента	Описание
<b>Лактоны</b>	Обладают противоопухолевой активностью, оказывают влияние на состав крови, на чувствительность организма к свету
<b>Сангвиритрин</b>	Обладает широким спектром противомикробной активности: эффективен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжеподобных и мицелиальных грибов, некоторых патогенных простейших. Активен в отношении антибиотико-резистентных штаммов микроорганизмов
<b>Эфирное масло ореха мускатного</b>	Обладает антибактериальным, противовоспалительным, спазмолитическим, болеутоляющим и противоотечным действием, способствует очищению бронхов от слизи, регулирует работу сердца. Омолаживает кожу, способствует регенерации тканей. Эффективно при грибковых инфекциях, чесотке и лишаях. В косметике используют для ухода за увядшей и морщинистой кожей, в шампунях против выпадения волос. Используется в пищевой промышленности как вкусо-ароматическая добавка при производстве кондитерских изделий, алкогольной и мясной продукции, в производстве овощных консервов
<b>Капсаицин</b>	Оказывает местное раздражающее, стимулирующее действие, ингибирует рост раковых клеток, обладает детоксикационными свойствами
<b>Эфирное масло перца черного горького</b>	Оказывает отхаркивающее, мочегонное действие, способствует понижению внутричерепного давления. Используется в шампунях против выпадения волос
<b>Пиперин</b>	Оказывает ветрогонное действие, улучшает аппетит. Используется в пищевой промышленности при производстве мясной продукции, овощных и рыбных консервов
<b>Эфирное масло перца душистого (основной компонент — эвгенол)</b>	Обладает ярко выраженным согревающим действием, стимулирует кровообращение, улучшает состояние даже в очень холодной среде. Часто помогает при кашле, грудных инфекциях, а также при гриппе, насморке и бронхите. Используется в пищевой промышленности при производстве ликеров, мясной продукции, овощных и рыбных консервов
<b>Эфирное масло петрушки (основной компонент — апиол)</b>	Оказывает противовоспалительное, возбуждающее, фунгицидное, антисептическое, антиспазматическое, бактерицидное действие. В косметике используется для лечения сухой себореи, розовых угрей, снимает пигментные пятна, отечность век. Считается хорошим тоником для кожи головы и волос. Используется в пищевой промышленности при производстве сыров, овощных и рыбных консервов, в масложировой продукции
<b>Полипrenoлы</b>	Обладают противовоспалительным, иммуномодулирующим действием, противоязвенным эффектом, восстанавливают репродуктивную функцию

Наименование компонента	Описание
<b>Карнозиновая кислота</b>	Обладает сильным антиоксидантным действием, предупреждает преждевременное старение кожи, препятствуя образованию перекисных радикалов, продлевает срок годности пищевых и косметических продуктов, обладает бактерицидным действием
<b>Азулен</b>	Обладает противоаллергенным, противовоспалительным, антисептическим, некоторым обезболивающим и вяжущим действиями
<b>Эфирное масло укропа (основной компонент — карвон)</b>	Оказывает ветрогонное действие; стимулирует пищеварение; повышает функциональную активность желудка; способствует разрешению от бремени; нормализует менструации; потогонное; спазмолитическое; успокоительное, дезинфицирующее действие. В косметике используют в составе средств по уходу за кожей, особенно предназначенных для сухой и чувствительной кожи, в средствах гигиены полости рта, в отбеливающих композициях. В пищевой промышленности применяется при производстве рыбных и овощных консервов
<b>Эфирное масло фенхеля (основной компонент — анетол)</b>	Оказывает бактериостатическое, бактерицидное, противовоспалительное действие, обладает спазмолитическими и отхаркивающими свойствами, улучшает коронарное кровообращение. В производстве косметических средств ценится как средство, предотвращающее появление морщин, устраняет угревую сыпь, вялотекущие воспалительные процессы, способствует выведению целлюлита
<b>Гликозиды</b>	Обладают противоопухолевым, антиоксидантным, бактерицидным, успокаивающим, обезболивающим, противовоспалительным действиями
<b>Хумулин, лупулин</b>	Обладают седативным, противовоспалительным, мочегонным, тонизирующим, усыпляющим действиями
<b>Эфирное масло чеснока</b>	Обладает антиканцерогенными свойствами, способностью стимулировать систему иммунитета
<b>Дитерпеновые фенолы</b>	Обладают выраженными антиоксидантными свойствами

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *McHugh, M.* Supercritical Fluid Extraction / M. McHugh, V. Krukonis. — 2nd ed. — Boston : Butterworth-Heinemann, 1994.
2. *DeSimone, J. M.* Dispersion polymerizations in supercritical carbon dioxide / J. M. DeSimone, E. E. Maury, Y. Z. Menceloglu, J. B. McClain, T. J. Romack, J. R. Combes // Science. — 1994. — 265:356–359. Design for CO<sub>2</sub> Processing 21.
3. *Francis, A. W.* Ternary systems of liquid carbon dioxide / J. Phys. Chem. — 1954. — 58:1099–1114.
4. *Giddings, J. C.* High pressure gas chromatography of nonvolatile species / J. C. Giddings, M. N. Myers, L. McLaren, R. A. Keller // Science. — 1968; 162:67–73.
5. *Allada, S. R.* Solubility parameters of supercritical fluids // Ind Eng Chem Process Design Dev. — 1984. — 23:344–348.
6. *Hyatt, J. A.* Liquid and supercritical carbon dioxide as organic solvents // J. Org Chem. — 1984. — 49:5097–5101.
7. *Gouw, T.* Solubility of C6–C8 aromatic hydrocarbons in liquid carbon dioxide // J. Chem Eng Data. — 1969. — 14:473–474.
8. *Alwani, Z.* Löslichkeitsverhalten von schwerflüchtigen biochemischen Stoffen in Komprimiertem Kohlendioxid // Angew Chem Int Ed Engl. — 1980. — 19:633–634.
9. *Meredith, J. C.* Quantitative equilibrium constants between CO<sub>2</sub> and Lewis bases from FTIR spectroscopy / J. C. Meredith, K. P. Johnston, J. M. Seminario, S. G. Kazarian, C. A. Eckert // J. Phys. Chem. — 1996. — 100:10837–10848.
10. *Iezzi, A.* Gel formation in carbon dioxide-semifluorinated alkane mixtures and phase equilibria of carbon dioxide-perfluorinated alkane mixture / A. Iezzi, P. Bendale, R. M. Enick, M. Turber, J. Brady // Fluid Phase Equilibria. — 1989. — 52:307–317.
11. *Consani, K. A.* Observations on the solubility of surfactants and related molecules in carbon dioxide at 50°C / K. A. Consani, R. D. Smith // J. Supercrit Fluids. — 1990. — 3:51–65.
12. *Newman, D. A.* Phase behavior of fluoroether-functional amphiphiles in supercritical carbon dioxide / D. A. Newman, T. A. Hoefling, R. R. Beitle, E. J. Beckman, R. M. Enick // J. Supercrit Fluids. — 1993. — 6:205–210.

13. *Hoefling, T. A.* Design and synthesis of highly CO<sub>2</sub>-soluble surfactants and chelating agents / T. A. Hoefling, R. R. Beitle, R. M. Enick, E. J. Beckman // *Fluid Phase Equilibria*. — 1993. — 83: 203–212.
14. *McHugh, M. A.* Solubility of CO<sub>2</sub>-modified polybutadiene and polyisoprene in supercritical carbon dioxide / M. A. McHugh, I. H. Park, J. J. Reisinger, Y. Ren, T. P. Lodge, M. A. Hillmyer // *Macromolecules*. — 2002. — 35:4653–4657.
15. *Harrison, K.* Water-in-carbon dioxide microemulsions with a fluorocarbon-hydrocarbon hybrid surfactant / K. Harrison, J. Goveas, K. P. Johnston, E. A. O'Rear // *Langmuir*. — 1994. — 10:3536–3541.
16. *Mertdogan, C. A.* Solubility of poly(tetrafluoroethylen-co-19 mol% hexafluoropropylene) in supercritical CO<sub>2</sub> and halogenated supercritical solvents / C. A. Mertdogan, H. S. Byun, M. A. McHugh, W. H. Tuminello // *Macromolecules*. — 1996. — 29:6548–6555.
17. *Eastoe, J.* Water-in-CO<sub>2</sub> microemulsions studied by small-angle neutron scattering / J. Eastoe, B. M. H. Cazelles, D. C. Steytler, J. D. Holmes, A. R. Pitt, T. J. Wear, R. K. Heenan // *Langmuir*. — 1997. — 13:6980–6984.
18. *Hsiao, Y. L.* Dispersion polymerization of methyl methacrylate stabilized with poly(1,1-dihydroperfluorooctyl acrylate) in supercritical carbon dioxide / Y. L. Hsiao, E. E. Maury, J. M. DeSimone, S. Mawson, K. P. Johnston // *Macromolecules*. — 1995. — 28: 8159–8166.
19. *Sparacio, D.* Generation of microcellular biodegradable polymers using supercritical carbon dioxide. ACS Symposium Series 713 / D. Sparacio, E. J. Beckman // In: *Solvent-Free Polymerization and Processes*. Washington, DC: American Chemical Society. — 1998. — 181–193.
20. *Ghenciu, E. G.* Solubilization of subtilisin in CO<sub>2</sub> using fluoroether-functional amphiphiles / E. G. Ghenciu, A. J. Russell, E. J. Beckman, L. Steele, N. T. Becker // *Biotechnol Bioeng*. — 1998. — 58:572–580.
21. *DeSimone, J. M.* Bioextractions with carbon dioxide / J. M. DeSimone, S. A. Crette, J. M. LeClerc, J. L. Kendall, R. G. Carbonell // *Proceedings of Int 5th Meeting on Supercritical Fluids*. — 1998. — 813–819.
22. *Holmes, J. D.* Bioconversions in a water-in-CO<sub>2</sub> microemulsion / J. D. Holmes, D. C. Steytler, G. D. Rees, B. H. Robinson // *Langmuir*. — 1998. — 14:6371–6376.
23. *Jacobsen, G. B.* Organic synthesis in water/carbon dioxide microemulsions / G. B. Jacobsen, C. T. Jr. Lee, K. P. Johnston // *J. Org Chem*. — 1999. — 64:1201–1206.
24. *McHugh, M. A.* Cosolvent effect of alkyl acrylates on the phase behavior of poly (alkyl acrylates)-supercritical CO<sub>2</sub> mixtures / M. A. McHugh, F. Rindfleisch, P. T. Kuntz, C. Schmaltz, M. Buback // *Polymer*. — 1998. — 39:6049–6052.
25. *Ghenciu, E. G.* Affinity extraction into carbon dioxide. 1. Extraction of avidin using a biotin-functional fluoroether surfactant / E. G. Ghenciu, E. J. Beckman // *Ind Eng Chem Res*. — 1997. — 36:5366–5370.
26. *Panza, J. L.* Synthesis of fluorinated NAD as a soluble coenzyme for enzymatic chemistry in fluoruous solvents and carbon dioxide / J. L. Panza, A. J. Russell, E. J. Beckman // *Tetrahedron*. — 2002. — 58:4091–4104.



27. *Mullins, J. W.* Ind Chem. — 1960; 36:272.
28. *Dixon, D. J.* Polymeric materials formed by precipitation with a compressed fluid antisolvent / D. J. Dixon, K. P. Johnston, R. A. Bodmeier. — AIChE J. — 1993. — 39(1): 127–139.
29. *Perrut, M.* Supercritical fluid applications: industrial development and economic issues. — Ind Eng Chem, 2000. — 39:4531–4535.
30. *Bellan, J.* Supercritical (and subcritical) fluid behavior and modeling: drops, streams, shear and mixing layers, jets and sprays / Prog Energy Combust Sci. — 2000. — 26:329–366.
31. *Shekunov, B. Y.* Analysis of mixing and crystallization in supercritical fluids using small angle X-ray scattering / B. Y. Shekunov, Y. Sun // Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids. — 2003. — 3:1813–1818.
32. *Shekunov, B. Y.* Optical characterization and mechanism of antisolvent precipitation in turbulent flow / B. Y. Shekunov, J. Baldyga, Y. Sun, E. Astrakcharchik, P. York // Proceedings of the 7th Meeting on Supercritical Fluids. — 2000. — 1:65–70.
33. *Lockemann, C. A.* High-pressure mass transfer coefficients in the liquid phase of the binary systems carbon dioxide-methyl myristate and carbon dioxide-methyl palmitate / C. A. Lockemann, E. U. Schlunder // Chem Eng Proc. — 1996. — 35:121–129.
34. *Harstad, K.* The Lewis number under supercritical conditions / K. Harstad, J. Bellan // Int J. Heat Mass Transfer. — 1999. — 42:961–970.
35. *Peng, D. Y.* A new two-constants equation of state / D. Y. Peng, D. B. Robinson // Ind Eng Chem Fundam. — 1976. — 15:59–63.
36. *BaJdyga, J.* Turbulent mixing and parallel chemical reactions in a pipe / J. BaJdyga, M. Henczka // Recent Prog Genie Proceedes. — 1997. — 11:341–348.
37. *Lou, H.* On the scalar probability density function transport equation for binary mixing in isotropic turbulence at supercritical pressure / H. Lou, R. S. Miller // Phys Fluids. — 2001. — 13:3386–3398.
38. *Reitz, R. D.* Mechanisms of breakup of round liquid jets / R. D. Reitz, F. V. Bracco // In: Cheremisinoff NP, ed. Encyclopedia of Fluid Mechanics. — Houston, TX : Gulf Publishing, 1986. — 231–249.
39. *Rayleigh, W. S.* On the instability of jets // Proc Lond Math Soc. — 1878. — 4:10.
40. *Weber, C.* On the breakdown of a fluid jet // Z Angew Math Mech. — 1931. — 11:136–154.
41. *Taylor, G. I.* Generation of Ripples by Wind Blowing over a Viscous Fluid // Collected Works of G. I. Taylor, Vol. 3. — 1940.
42. *Ranz, W. E.* Some experiments on orifice sprays // Can J. Chem Eng. — 1958.
43. *Duffie, J. A. Jr.* Factors influencing the properties of spray-dried materials / J. A. Duffie, W. R. Marshall // Part I. Vol. 49. Chem Eng Proc, 1953. — 8:417–423.
44. *Narasimhamurty, G. S. R.* Hydrodynamics of liquid drops in air / G. S. R. Narasimhamurty, A. Parushothamen, K. Sivaji // In: Cheremisinoff NP, ed. Encyclopedia of Fluid Mechanics. — Houston, TX : Gulf Publishing, 1986. — 250–279.

45. *Loth, E.* Numerical approaches for motion of dispersed particles, droplets and bubbles // *Prog Energy Combust Sci.*, 2000. — 26:161–223.
46. *Liu, H.* Modeling of droplet-gas interactions in spray atomization of Ta-2.5W alloy / H. Liu, R. H. Rangel, E. J. Lavernia // *Mater Sci Eng.* — 1995. — A191:171–184.
47. *Schlichting, H.* Boundary Layer Theory. — New York : Mc. Graw-Hill, 1979.
48. *Taylor, G.I.* The instability of liquid surfaces when accelerated in a direction perpendicular to their planes. Part I. *Proc R Soc Lond* 1950 ; A 201:192–196 ; also in *The Scientific Papers of G. I. Taylor. Vol. 3* // In Batchelor GK, eds. Cambridge: University Press, 1993.
49. *Pilch, M.* Use of breakup time data and velocity history data to predict the maximum size of stable fragments for acceleration-induced break-up of a liquid drop / M. Pilch, C. Erdman. — *Int J. Multiphase Flow*, 1987. — 13:741–757.
50. *Joseph, D. D.* Breakup of a liquid drop suddenly exposed to a high-speed airstream / D. D. Joseph, J. Belanger, G. S. Beavers // *Int J. Multiphase Flow*, 1999. — 25:1263–1303.
51. *Kolmogorov, A. N.* Disintegration of drops in turbulent flows // *Dokl Akad Nauk SSSR*, 1949. — 66:825–828.
52. *Hinze, J. O.* Fundamentals of the hydrodynamic mechanism of splitting in dispersion process. — *AIChE J.*, 1955. — 1:289–295.
53. *Kolmogorov, A. N.* The local structure of turbulence in incompressible viscous fluid for very large Reynolds number // *Dokl. Akad Nauk SSSR*, 1941. — 30:301–305.
54. *BaJdyga, J.* Turbulent Mixing and Chemical Reactions / J. BaJdyga, J. R. Bourne. — Chichester : John Wiley & Sons, 1999.
55. *Werling, J. O.* Numerical modeling of mass transfer in the supercritical antisolvent process: miscible conditions / J. O. Werling, P. G. Debenedetti // *J. Supercrit Fluids*, 2000. — 18: 11–24.
56. *Sherwood, T. K.* Mass Transfer / T. K. Sherwood, R. L. Pigford, C. R. Wilke. — New York : McGraw-Hill, 1975.
57. *Lockemann, C. A.* High-pressure mass transfer coefficients in the liquid phase of the binary systems carbon dioxide-methyl myristate and carbon dioxide-methyl palmitate / C. A. Lockemann, E. U. Schlunder // *Chem Eng Proc*, 1996. — 35:121–129.
58. *Shekunov, B. Y.* Particle formation by mixing with supercritical antisolvent at high Reynolds numbers / B. Y. Shekunov, J. BaJdyga, P. York // *Chem Eng Sci*, 2001. — 56:2421–2433.
59. *Sohnel, O.* Precipitation / O. Sohnel, J. Garside. — Oxford : Butterworth-Heinemann, 1992.
60. *Mullin, J. W.* Crystallization. — Oxford : Butterworth-Heinemann, 1993.
61. *BaJdyga, J.* Some hydrodynamic aspects of precipitation / J. BaJdyga, W. Orciuch // *Powder Technol*, 2001. — 121:9–19.
62. *Smoluchowski, M.* Versuch einer mathematischen Theorie der Koagulations-Kinetik kolloider Lösungen // *Z Phys Chem*, 1917. — 92:129–168.

63. *Saffman, P. G.* On the collision of drops in turbulent clouds / P. G. Saffman, J. S. Turner // *J. Fluid Mech.* 1956. — 1:16–30.
64. *Spielman, L. A.* Viscous interactions in Brownian coagulation // *J. Colloid Interface Sci.* 1970. — 33:562–571.
65. *Saffman, P. G.* On the collision of drops in turbulent clouds / P. G. Saffman, J. S. Turner // *J. Fluid Mech.* 1956. — 1:16–30.
66. *Abrahamson, J.* Collision rates of small particles in a vigorously turbulent fluid // *Chem Eng Sci.* 1975. — 30:1371–1379.
67. *Kruis, F. E.* The collision rate of particles in turbulent flow / F. E. Kruis, K. A. Kusters // *Chem Eng Commun.* 1997. — 158:201–230.
68. *Bristow, S.* Analysis of the supersaturation and precipitation process with supercritical CO<sub>2</sub> / S. Bristow, T. Shekunov, B. Y. Shekunov, P. York // *J. Supercrit Fluids*, 2001. — 21: 257–271.
69. *Astrakharchik-Farrimond, E.* Dynamic measurements in supercritical flow using instantaneous phase-shift interferometry / E. Astrakharchik-Farrimond, B. Y. Shekunov, P. York, N. B. E. Sawyer, S. P. Morgan, M. G. Somekh, C. W. See // *Exp Fluids*, 2002. — 33:307–314.
70. *Bruol, L., Matthaus, B., Fresenius, J.* *Anal. Chem.* 364 (1999). — 631.
71. *Modey, W. K., Mulholland, D. A., Mahomed, H., Raynor, M. W., Microcolumn, J.* Sep. 8 (1996). — 67.
72. *Smith, R. M.* (ed.) *Supercritical Fluid Chromatography* / The Royal Society of Chemistry. — London, 1988.
73. *Palma, M., Talor, L. T., Varela, R. M., Cutler, S. J., Cutler, H. G., Agric, J.* *Food Chem.* 47 (1999). — 5044.
74. *Ling, Y.-C., Teng, H.-C., Cartwright, C.* / *J. Chromatogr. A* 835 (1999). — 145.
75. *Miyachi, H., Manabe, A., Tokumori, T., Sumida, Y., Yoshida, T., Nishibe, S., Agata, T., Nomura, T., Okuda, T., Yakugaku.* *Zasshi* 107 (1987). — 435.
76. *Lin, M. C., Tsai, M. J., Wen, K. C.* / *J. Chromatogr. A* 830 (1999). — 387.
77. *Janicot, J. L., Caude, M., Rosset, R., Veuthey, J. L.* / *J. Chromatogr.* 505 (1990). — 242.
78. *Marsili, R., Callahan, D.* / *J. Chromatogr. Sci.* 31 (1993). — 422.
79. *Ashraf-Khorassani, M., Taylor, L. T., Martin, M.* *Chromatographia* 5:6 (1999). — 287.
80. *Ashraf-Khorassani, M., Taylor, L. T., Anal. Chim. Acta* 347 (1997). — 305.
81. *Bartley, J. P., Foley, P. J.* *Sci. Food Agric.* 66 (1994). — 365.
82. *Lehotay, S. J., Valverde-Garcia, A.* / *J. Chromatogr. A* 765 (1997). — 69.
83. *Weathers, R. M., Beckholt, D. A., Lavella, A. L., Danielson, N. D.* / *J. Chromatogr. Liq. Rel. Technol.* 22 (1999). — 241.
84. *Ibanez, E., Oca, A., de Murga, G., Lopez-Sebastian, S., Tabera, J., Reglero, G., Agric, J.* *Food Chem.* 47 (1999). — 1400.
85. *Stahl, E., Glatz, A.* *Fette Seifen Anstruich.* 9 (1984). — 346.
86. *Choi, Y. H., Kim, J., Jeon, S. H., Yoo, K. P., Lee, H. K.* *Chromatographia* 9:10 (1998). — 695.

87. Reverchon, E., Donsi, G., Osseo, L. S. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32 (1993). — 2721.
88. Sanagi, M. M., Hung, W. P., Yasir, S. M. / *J. Chromatogr. A* 785 (1997). — 361.
89. Verschuere, M., Sandra, P., David, F. / *J. Chromatogr. Sci.* 30 (1992). — 388.
90. Stefani, R., Buzzi, M., Grazzi, R. / *J. Chromatogr. A* 782 (1997). — 123.
91. Lehotay, S. J. / *J. Chromatogr. A* 785 (1997). — 289.
92. Blanch, G. P., Caja, M. M., del Castillo, M. L. R., Santa-Maria, G., Herreraiz, M. / *J. Chromatogr. Sci.* 37 (1999). — 407.
93. Ambrosino, P., Fresa, R., Fogliano, V., Monti, S. M., Ritieni, A., Agric, J. *Food Chem.* 47 (1999). — 5252.
94. Smith, R. M., Burford, M. D. / *J. Chromatogr.* 600 (1992). — 175.
95. Ramsey, E. D., Minty, B., Rees, A. T. *Anal. Commun.* 9 (1997). — 261.
96. Bartle, K. D., Clifford, A. A., Hawthorne, S. B., Langenfeld, J. J., Miller, D. J., Robinson, R. / *J. Supercrit. Fluids* 3 (1990). — 143.
97. Dean, J. R., Liu, B. *Phytochem. Anal.* 11 (2000). — 1.
98. Ibanez, E. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants / E. Ibanez, A. Kubatova, F. J. Senorans, S. Cavero, G. Reglero, S. B. Hawthorne // *J. Agric. Food Chem.* 2003. — 51:375–82.
99. Shi, J. Green separation technologies in food processing: supercritical-CO<sub>2</sub> fluid and subcritical water extraction / J. Shi, S. J. Xue, Y. Ma, Y. Jiang, X. Ye, D. Yu // *In Green Technologies in Food Production and Processing* ; ed. J. I. Boye, Y. Arcand. — New York : Springer, 2012. — 273–94.
100. Spilimbergo, S. Microbial inactivation by high-pressure / S. Spilimbergo, N. Elvassore, A. Bertucco // *J. of Supercritical Fluids*, 2002. — 22, 55–63.
101. Valley, G. The influence of carbon dioxide on bacteria / G. Valley, L. F. Rettger // *J. of Bacteriology*. — 1927. — 14. — 101–137.
102. Hong, S.-I. Inactivation kinetics of *Lactobacillus plantarum* by high pressure carbon dioxide / S.-I. Hong, Y. R. Pyun // *J. of Food Science*. — 1999. — 64. — 728–733.
103. Spilimbergo, S. Non-thermal bacteria inactivation with dense CO<sub>2</sub> / S. Spilimbergo, A. Bertucco // *Biotechnology and Bioengineering*. — 2003. — 84. — 627–638.
104. Hutkins, R. W. pH homeostasis in lactic-acid bacteria / R. W. Hutkins, N. L. Nannen // *J. of Dairy Science*. — 1993. — 76. — 2354–2365.
105. Lin, H.-M. Inactivation of *Leuconostoc dextranicum* with carbon dioxide under pressure / H.-M. Lin, Z. Y. Yang, L.-F. Chen // *Chemical Engineering J. and the Biochemical Engineering J.* — 1993. — 52. — B29–B34.
106. Spilimbergo, S. A study about the effect of dense CO<sub>2</sub> on microorganisms. — PhD thesis, University of Padova, Italy, 2002.
107. Bothun, G. D. Liposome fluidization and melting point depression by pressurized CO<sub>2</sub> determined by fluorescence anisotropy / G. D. Bothun, B. L. Knutson, H. J. Strobel, S. E. Nokes // *Langmuir*. — 2005. — 21. — 530–536.
108. Booth, I. R. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria / *Microbiological Reviews*. — 1985. — 49. — 359–378.

109. *Spilimbergo, S.* Determination of extracellular and intracellular pH of *Bacillus subtilis* suspension under CO<sub>2</sub> treatment / S. Spilimbergo, A. Bertucco, G. Basso, G. Bertoloni // Biotechnology and Bioengineering. — 2005. — 92. — 447–451.
110. *Hong, S.-I.* Membrane damage and enzyme inactivation of *Lactobacillus plantarum* by high pressure CO<sub>2</sub> treatment / S.-I. Hong, Y.-R. Pyun // International J. of Food Microbiology. — 2001. — 63. — 19–28.
111. *Ballestra, P.* Inactivation of *Escherichia coli* by carbon dioxide under pressure / P. Ballestra, A. A. Dasilva, J.-L. Cuq // J. of Food Science. — 1996. — 61. — 829.
112. *Jones, R. P.* Effect of carbon dioxide on yeast growth and fermentation / R. P. Jones, P. F. Greenfield // Enzyme and Microbial Technology. — 1982. — 4. — 210–223.
113. *Lin, H.-M.* Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by supercritical and subcritical carbon dioxide / H.-M. Lin, Z. Y. Yang, L.-F. Chen // Biotechnology Progress. — 1992a. — 8. — 458–461.
114. *Hong, S.-I.* Non-thermal inactivation of *Lactobacillus plantarum* as influenced by pressure and temperature of pressurized carbon dioxide / S.-I. Hong, W.-S. Park, Y.-R. Pyun // International J. of Food Science and Technology. — 1999. — 34. — 125–130.
115. *Bertoloni, G.* A study on the inactivation of micro-organisms and enzymes by high pressure CO<sub>2</sub> / G. Bertoloni, A. Bertucco, V. De Cian, T. Parton // Biotechnology and Bioengineering. — 2006. — 95. — 155–160.
116. *Sims, M.*, Membrane carbon dioxide sterilization of liquid foods: scale up of a commercial continuous process / M. Sims, E. Estigarribia // Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Symposium on Supercritical Fluids, 28–30 April. — Versailles, France. — 2003. — 1457–1460.
117. *Gunes, G.* Inactivation of *Escherichia coli* (ATCC 4157) in diluted apple cider by dense-phase carbon dioxide / G. Gunes, L. K. Blum, J. H. Hotchkiss // J. of Food Protection. — 2006. — 69. — 12–16.
118. *Dillow, A. K.* Bacterial inactivation by using near- and supercritical carbon dioxide / A. K. Dillow, F. Dehghani, J. S. Hrkach, N. R. Foster, R. Langer // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1999. — 96. — 10344–10348.
119. *Hong, S.-I.* Inactivation of *Lactobacillus* sp. from kimchi by high pressure carbon dioxide / S.-I. Hong, W.-S. Park, Y.-R. Pyun // Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. — 1997. — 30. — 681–685.
120. *Haas, G. J.* Inactivation of microorganisms by carbon dioxide under pressure / G. J. Haas, H. E. Prescott, E. Dudley, R. Dik, C. Hintlian, L. Keane // J. of Food Safety. — 1989. — 9. — 253–265.
121. *Dillow, A. K.* Bacterial inactivation by using near- and supercritical carbon dioxide / A. K. Dillow, F. Dehghani, J. S. Hrkach, N. R. Foster, R. Langer // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1999. — 96. — 10344–10348.

122. Kumugai, H. CO<sub>2</sub> sorption by microbial cells and sterilization by high-pressure CO<sub>2</sub> / H. Kumugai, C. Hata, K. Nakamura // Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. — 1997. — 61. — 931–935.
123. Fraser, D. Bursting bacteria by release of gas pressure. Nature. — 1951. — 167. — 33–34.
124. Foster, J. W. Rupture of bacteria by explosive decompression / J. W. Foster, R. M. Cowan, T. A. Maag // J. of Bacteriology. — 1962. — 83. — 330–334.
125. Liu, X. F. Effects of CO<sub>2</sub> compression and decompression rates on the physiology of microorganisms / X. F. Liu, B. Q. Zhang, T. J. Li // Chinese J. of Chemical Engineering. — 2005. — 13. — 140–143.
126. Enomoto, A. Lethal effect of high-pressure carbon dioxide on a bacterial spore / A. Enomoto, K. Nakamura, M. Hakoda, N. Amaya // J. of Fermentation and Bioengineering. — 1997a. — 83. — 305–307.
127. Lin, H.-M. Antimicrobial effect of pressurized carbon dioxide on *Listeria monocytogenes* / H.-M. Lin, N. J. Cao, L.-F. Chen // J. of Food Science. — 1994. — 59. — 657–659.
128. Wei, C. I. Bacterial effect of high pressure CO<sub>2</sub> treatment on foods spiked with *Listeria* or *Salmonella* / C. I. Wei, M. O. Balaban, S. Y. Fernando, A. J. Peplow // J. of Food Protection. — 1991. — 54. — 189–193.
129. Erkmen, O. Antimicrobial effects of pressurized carbon dioxide on *Brochotrix thermosphacta* in broth and foods / J. of the Science of Food and Agriculture. — 2000b. — 80. — 1365–1370.
130. Ishikawa, H. Inactivation of *Bacillus* spores by the supercritical carbon dioxide micro-bubble method / H. Ishikawa, M. Shimoda, K. Tamaya, A. Yonekura, T. Kawano, Y. Osajima // Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. — 1997. — 61. — 1022–1023.
131. Furukawa, S. Effect of high pressure gaseous and supercritical carbon dioxide treatments on bacterial spores / S. Furukawa, T. Watanabe, T. Tai, J. Hirata, H. Ogihara, M. Yamasaki // Biocontrol Science. — 2003. — 8. — 97–100.
132. Ballestra, P. Influence of pressurized carbon dioxide on the thermal inactivation of bacterial and fungal spores / P. Ballestra, J.-L. Cuq // Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. — 1998. — 31. — 84–88.
133. Furukawa, S. Effect of high pressure carbon dioxide on the clumping of the bacterial spores / S. Furukawa, T. Watanabe, T. Koyama, J. Hirata, N. Narisawa, H. Ogihara, M. Yamasaki // International J. of Food Microbiology. — 2006. — 106. — 95–98.
134. Watanabe, T. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by high pressure carbon dioxide treatment / T. Watanabe, S. Furukawa, J. Hirata, T. Koyama, H. Ogihara, M. Yamasaki // Applied and Environmental Microbiology. — 2003a. — 69. — 7124–7129.
135. Dillow, A. K. Bacterial inactivation by using near- and supercritical carbon dioxide / A. K. Dillow, F. Dehghani, J. S. Hrkach, N. R. Foster, R. Langer // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1999. — 96. — 10344–10348.

136. *Spilimbergo, S.* Inactivation of bacteria and spores by pulse electric field and high pressure CO<sub>2</sub> at low temperature / S. Spilimbergo, F. Dehghani, A. Bertucco, N. R. Foster // *Biotechnology and Bioengineering*. — 2003b. — 82. — 118–125.
137. *Zhang, J.* Sterilizing *Bacillus pumilus* spores using supercritical carbon dioxide / J. Zhang, S. Burrows, C. Gleason, M. A. Matthews, M. J. Drews, M. La-Berge, Y. H. H. An // *J. of Microbiological Methods*. — 2006. — 66. — 479–485.
138. *Kamihira, M.* Sterilization of microorganisms with supercritical carbon dioxide / M. Kamihira, M. Taniguchi, T. Kobayashi // *Agricultural and Biological Chemistry*. — 1987. — 51. — 407–412.
139. *Park, S.-J.* Effects of a combined process of high pressure carbon dioxide and high hydrostatic pressure on the quality of carrot juice / S.-J. Park, J.-I. Lee, J. Park // *J. of Food Science*. — 2002. — 67. — 1827–1834.
140. *Arreola, A. G.* Supercritical carbon dioxide effects on some quality attributes of single strength orange juice / A. G. Arreola, M. O. Balaban, M. R. Marshall, A. J. Peplow, C. I. Wei, J. A. Cornell // *J. of Food Science*. — 1991a. — 56. — 1030–1033.
141. *Balaban, M. O.* The synergistic use of carbon dioxide and pressure in nonthermal processing of juices / M. O. Balaban, D. Kincal, S. Hill, M. R. Marshall, R. Wildasin // *IFT Annual Meeting Book of Abstracts*; 2001 June 23–27. — New Orleans ; La Chicago Ill. : Inst. of Food Technologists.
142. *Del Pozo-Insfran, D.* Microbial stability, phytochemical retention, and organoleptic attributes of dense phase CO<sub>2</sub> processed muscadine grape juice / D. Del Pozo-Insfran, M. O. Balaban, S. T. Talcott // *J. of Agricultural and Food Chemistry*. — 2006. — 54. — 5468–5473.
143. *Kincal, D.* A continuous high pressure carbon dioxide system for microbial reduction in orange juice / D. Kincal, W. S. Hill, M. O. Balaban, K. M. Portier, C. I. Wei, M. R. Marshall // *J. of Food Science*. — 2005. — 70. — M249–M254.
144. *Garcia-Gonzalez, L.* High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future // L. Garcia-Gonzalez, A. H. Geeraerd, S. Spilimbergo, K. Elst, L. Van Ginneken, J. Debevere, J. F. Van Impe / *International J. of Food Microbiology*. — 117(2007), 1–28.
145. *Panza, J. L.* Chemistry and material design for CO<sub>2</sub> processing / J. L. Panza, E. J. Beckman // *Marcel Dekker, Inc.* — 2004. — ISBN: 0-8247-4805-0.
146. *Mikhopadhyay, M.* Phase equilibrium in Solid-liquid-supercritical fluid systems / *Marcel Dekker, Inc.* — 2004. — ISBN: 0-8247-4805-0.
147. *Baldyga, J.* Fluid dynamics, mass transfer and particle formation in supercritical fluids / J. Baldyga, M. Henczka, B. Y. Shekunov // *Marcel Dekker, Inc.* — 2004. — ISBN: 0-8247-4805-0.
148. *Wood, J. A.* Extraction of ginsenosides from North American ginseng using modified supercritical carbon dioxide / J. A. Wood, M. A. Bernards, Wan Wan-kei, P. A. Charpentier // *J. of Supercritical Fluids*. — 2006. — 39 (2006). — 40–47.
149. *King, J. W.* Modern supercritical fluid technology for food applications / *Annu. Rev. Food. Sci. Technol.* — 2014. — 5:215-38.

*Майя Петровна РАЗГОНОВА,  
Александр Михайлович ЗАХАРЕНКО,  
Александр Александрович СЕРГИЕВИЧ,  
Татьяна Кузьминична КАЛЕНИК,  
Кирилл Сергеевич ГОЛОХВАСТ*

**СВЕРХКРИТИЧЕСКИЕ ФЛЮИДЫ:**  
**ТЕОРИЯ, ЭТАПЫ СТАНОВЛЕНИЯ, СОВРЕМЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ**  
*Учебное пособие*

Зав. редакцией  
естественнонаучной литературы *М. В. Рудкевич*  
Ответственный редактор *С. В. Макаров*  
Подготовка макета *Е. Е. Егорова*  
Корректор *А. А. Толстова*  
Выпускающий *О. В. Шилкова*

ЛР № 065466 от 21.10.97  
Гигиенический сертификат 78.01.10.953.П.1028  
от 14.04.2016 г., выдан ЦГСЭН в СПб

**Издательство «ЛАНЬ»**  
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com  
196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д.1, лит. А.  
Тел.: (812) 336-25-09, 412-92-72.  
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 13.05.19.  
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 70×100 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Печать офсетная. Усл. п. л. 15,60. Тираж 100 экз.

Заказ № 347-19.

Отпечатано в полном соответствии  
с качеством предоставленного оригинал-макета  
в АО «Т8 Издательские технологии»  
109316, г. Москва, Волгоградский пр., д. 42, к. 5.