



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 111 991** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **C 09 B 61/00**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 93058202/13, 09.04.1992

(30) Приоритет: 12.04.1991 US 684.590

(46) Дата публикации: 27.05.1998

(56) Ссылки: SU, авторское свидетельство, 1613462, кл. C 09 B 61/00, 1990.

(86) Заявка PCT:
US 92/02929 (09.04.92)

(71) Заявитель:
Хьюманетикс Корпорейшн (US)

(72) Изобретатель: Фредерик А.Грейвс[US],
Даниэль Д.Гэллехер[US]

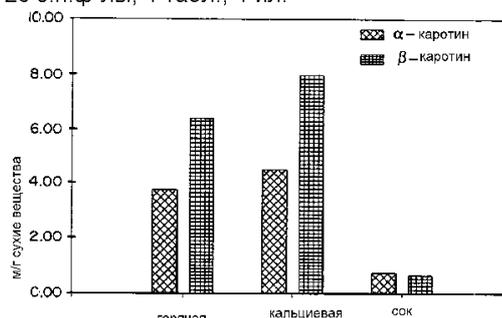
(73) Патентообладатель:
Хьюманетикс Корпорейшн (US)

(54) СПОСОБ ЭКСТРАКЦИИ КАРОТИНОИДОВ ИЗ КАРОТИНОИДСОДЕРЖАЩЕГО ПРИРОДНОГО ИСТОЧНИКА (ВАРИАНТЫ)

(57) Реферат:

Использование: в пищевой промышленности. Сущность изобретения: фракцию, обогащенную каротиноидами, экстрагируют из природных источников, например из моркови, посредством разделения каротиноидсодержащего природного источника на каротиноидсодержащую жидкую фракцию и фракцию пульпы, добавления осадителя каротиноидов, включающего хлорид кальция, гидроксид кальция, лактат кальция или глюконат кальция, к жидкой фракции для образования твердого осадка, обогащенного каротиноидами, и отделения твердого осадка, обогащенного каротиноидами, от жидкой

фракции, обедненной каротиноидами. 2 с. и 26 з.п.ф-лы, 4 табл., 4 ил.



Фиг.1

RU 2 1 1 1 9 9 1 C 1

RU 2 1 1 1 9 9 1 C 1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 111 991** ⁽¹³⁾ **C1**
 (51) Int. Cl.⁶ **C 09 B 61/00**

RUSSIAN AGENCY
 FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 93058202/13, 09.04.1992
 (30) Priority: 12.04.1991 US 684.590
 (46) Date of publication: 27.05.1998
 (86) PCT application:
 US 92/02929 (09.04.92)

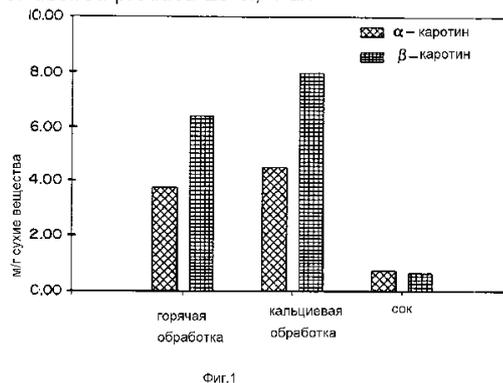
(71) Applicant:
Kh'jumanetiks Korporejshn (US)
 (72) Inventor: **Frederik A.Grejvs[US],
 Daniehl' D.Gehllekher[US]**
 (73) Proprietor:
Kh'jumanetiks Korporejshn (US)

(54) **METHOD FOR EXTRACTION OF CAROTINOIDES OF CAROTINOIDE-CONTAINING NATURAL ORIGIN (VARIANTS)**

(57) Abstract:

FIELD: food industry. SUBSTANCE: natural origin of carotinoides (for example, carrot) is affected by extraction, thus prepared carotinoide-containing liquid fraction is separated against pulp. Then precipitating agent (for example, calcium chloride, calcium hydroxide, calcium lactate and calcium gluconate) is added into liquid fraction to prepare solid precipitate being enriched by carotinoides. Then solid precipitate being enriched by carotinoides is separated against liquid fraction being stripped by carotinoides. EFFECT: improved efficiency of the method; improved quality

of desired product. 29 cl, 4 tbl



RU 2 1 1 1 9 9 1 C 1

RU 2 1 1 1 9 9 1 C 1

Изобретение касается способов экстракции каротиноидов из каротиноидсодержащих природных источников. Более конкретно изобретение относится к способам экстракции каротиноидов из природных источников, таких как морковь, предусматривающих измельчение указанного сырья, разделение его на жидкую каротиноидсодержащую фракцию и фракцию пульпы, контактирование каротиноидсодержащей жидкой фракции с осадителем для фракционирования жидкой фракции на твердый осадок, обогащенный каротиноидами, и жидкую часть, обедненную каротиноидами, и отделение указанного твердого осадка от указанной жидкой части. Такой способ известен, например, из авт. св. СССР N 1613462, кл. C 09 B 61/00, 1990.

Наибольшие проблемы до сих пор вызывала стадия фракционирования. Для повышения эффективности способа были проведены исследования, в результате которых было обнаружено, что наиболее эффективными осадителями являются соли кальция.

Таким образом, согласно изобретению в качестве осадителя используют такие соли, как хлорид кальция, гидроксид кальция, лактат кальция или глюконат кальция, взятые в эффективном фракционирующем количестве, с получением твердого осадка, обогащенного каротиноидами, и раствора, обедненного каротиноидами, которые затем разделяют известными методами.

Каротиноиды - природные красители от желтого до красного цвета, относящиеся к группе сильно ненасыщенных углеводов терпенового ряда и их производных с большим числом сопряженных двойных связей (полиены).

Важнейшие представители и источники получения:

каротин $C_{40}H_{56}$ (провитамин А), содержится в моркови, гречихе и люцерне; лютеин $C_{40}H_{54}(OH)_2$, содержится в цветах и листьях;

ликопин $C_{40}H_{56}$ - краситель помидоров. Например, дегидрирование фитоена дает каротиноид ликопин, который ответствен за цвет томатов, а циклизация обеих связей ликопина дает каротиноид бета-каротин, который ответствен за цвет моркови.

Каротиноиды, такие как β -каротин, - полезные пигменты, пригодные для окрашивания различных съедобных продуктов, таких как маргарин, поскольку их использование не вызывает проблем, связанных со здоровьем, которые возникают при использовании синтетических красителей, и кроме того, они на самом деле обладают значительной пищевой ценностью (β -каротин - исходный продукт для образования ретинола и витамина А у человека).

Поскольку каротиноиды встречаются в природе только в следовых количествах, каротиноиды можно экстрагировать в концентрированной форме для того, чтобы их использовать. Обычно каротиноиды экстрагируют из природных источников обработкой материала углеводородным растворителем, растворяющим каротиноиды, таким как гексан, или хлороформ, отделением углеводородного растворителя, содержащего каротиноиды, от остатков материала, и затем удалением углеводородного растворителя

для получения твердого продукта, обогащенного каротиноидами.

Кроме каротиноидов растения содержат множество других составляющих, которые растворимы в углеводородных растворителях, таких как, например, различные протеины и липиды. Соответственно твердый продукт, обогащенный каротиноидами, обычно содержит значительные количества других компонентов кроме каротиноида/ов/.

Использование углеводородного растворителя для экстракции каротиноидов значительно увеличивает стоимость и сложность операции экстракции из-за расходов, связанных с углеводородным растворителем, расходов, связанных с удалением углеводородного растворителя из конечного продукта, расходов, связанных с извлечением удаленного углеводородного растворителя, и расходов, связанных с избавлением от загрязненного углеводородного растворителя, который не может быть использован повторно. Кроме того, использование углеводородного растворителя для осуществления экстракции каротиноидов наносит значительный ущерб окружающей среде из-за выделения углеводородных паров в атмосферу и приводит к необходимости удаления загрязненного углеводородного растворителя, который не может быть использован повторно.

Соответственно возникла необходимость простого, безопасного для окружающей среды способа экстрагирования каротиноидов из каротиноидсодержащих природных источников, который избегает необходимости использования углеводородного растворителя.

Авторы обнаружили способ экстрагирования каротиноидов из каротиноидсодержащих природных источников, таких как морковный сок, который включает стадии: *i*/ разделения каротиноидсодержащего природного источника на каротиноидсодержащую жидкую фракцию и фракцию пульпы, *ii*/ контактирования жидкой фракции с эффективным фракционирующим количеством осадителя каротиноидов, включающего хлорид кальция, гидроксид кальция, лактат кальция или глюконат кальция, с тем, чтобы фракционировать жидкую фракцию на порцию твердого осадка, обогащенного каротиноидами, и жидкую порцию, обедненную каротиноидами, и *iii*/ отделения твердой порции, обогащенной каротиноидами, от жидкой порции, обедненной каротиноидами.

Твердую фракцию, обогащенную каротиноидами, можно использовать непосредственно, или можно далее очистить с тем, чтобы отделить каротиноиды от других составляющих твердой фракции любой подходящей разделительной технологией. Предпочтительно технологии включают химический и ферментный гидролиз и химическое и ферментное разложение, посредством чего некаротиноидные составляющие отделяют от каротиноида/ов/ в жидкой среде. Хотя твердую фракцию, обогащенную каротиноидами, можно очистить, используя традиционную органическую жидкость или твердофазную

экстракцию, использование такой экстракционной технологии разрушает желаемую органическую природу способа и, следовательно, не пользуется спросом.

Фиг. 1 представляет диаграмму образца, полученную по данным табл. 1 и показывающую концентрацию каротина, извлеченного из обработанного и необработанного морковного сока.

Фиг. 2 - диаграмма образца, показывающая степень отделения каротиноидов, достигнутую добавлением ко всему морковному соку различных солей с концентрацией от 0,5 до 2 мас.%, при этом достигается самая высокая степень отделения, полученная для каждой соли в пределах области испытываемых концентраций, представленных на диаграмме.

Фиг. 3 - диаграмма образца, показывающая степень отделения каротиноидов, достигнутую добавлением ко всему морковному соку солей кальция различной концентрации.

Фиг. 4 представляет диаграмму образца, показывающую скорость отделения каротиноидов, достигнутую добавлением ко всему морковному соку хлорида кальция при различных значениях pH.

Твердый продукт, обогащенный каротиноидами, можно просто, быстро и эффективно экстрагировать из каротиноидсодержащих природных источников, таких как морковь, посредством /i/ разделения каротиноидсодержащего природного источника на каротиноидсодержащую жидкую фракцию и фракцию пульпы, /iii/ обработки каротиноидсодержащей жидкой фракции осадителем каротиноидов, включающим хлорид кальция, гидроксид кальция, лактат кальция или глюконат кальция, с тем, чтобы фракционировать жидкую фракцию на твердый осадок, обогащенный каротиноидами, и жидкую часть, обедненную каротиноидами, и /iiii/ разделения жидкой и твердой фаз известными средствами.

Авторы убеждены, что в сущности любой каротиноидсодержащий природный источник может быть эффективно фракционирован в соответствии с изобретением для получения продукта, обогащенного каротиноидами, включая особенно, но не только, фрукты, такие как ананасы и апельсины; овощи, такие как морковь, шпинат, батат и томаты; морские водоросли, такие как, например, *Dunaliella Salina*; бактерии, например, типа *Mucorales*, включая *S. trispora* и *Blakeslea Circinans*; и грибки. Если основываться на доступности, низкой стоимости и высокой концентрации коммерчески ценного β -каротина, при выборе исходного материала предпочтение отдается моркови.

Первой стадией в способе по изобретению является разделение каротиноидсодержащего природного источника на каротиноидсодержащую жидкую фракцию и фракцию пульпы. Поскольку точный механизм, используемый для достижения этого разделения, зависит от нескольких факторов, включая конкретный каротиноидный источник, такое разделение может обычно быть достигнуто путем простого отжатия сока каротиноидного источника и фильтрованием сока через фильтр с крупноячеистой фильтрующей

тканью. Разрушение ячеистой структуры каротиноидного источника во время разделения обычно неотъемлемо приводит к переходу каротиноида/ов/ каротиноидного источника из фракции пульпы в жидкую фракцию.

Добавление осадителя каротиноидов, включающего хлорид кальция, гидроксид кальция или глюконат кальция, к каротиноидсодержащей жидкой фракции вызывает осаждение фракции, обогащенной каротиноидами, которую можно отделить от оставшейся жидкой фракции, обедненной каротиноидами, известными способами разделения.

Физический и/или химический механизм/ы/, ответственный за осаждение твердой фракции, обогащенной каротиноидами, достигнутое добавлением источника ионизованного кальция, не является полностью понятным. При попытке установления, будет ли пектин и/или протеины, содержащиеся в жидкой фракции, участвовать в этом явлении, пробы морковного сока обрабатывали ферментом протеазы и ферментом пектиназы перед добавлением хлорида кальция, осаждающего каротиноиды. /Смотри табл. 3 и сопровождающие заключения/. Такая предварительная обработка ферментом для разложения протеинов /протеазы/ и пектина /пектиназы/, содержащихся в соке, не приводит к заметным изменениям при фракционировании сока хлоридом кальция. Соответственно было отмечено, что протеин и пектин, содержащиеся в каротиноидсодержащей жидкой фракции, не играют независимой активной роли в физическом и/или химическом механизме, ответственном за осаждение твердой фракции, обогащенной каротиноидами, из жидкой фракции при добавлении перечисленных осадителей каротиноидов.

Попытки получить сравнимое фракционирование с другими минеральными солями, такими как хлорид натрия, хлорид калия, хлорид магния, карбонат кальция и фосфат кальция, и каустиками, такими как гидроксид натрия и гидроксид калия, явились по существу unsuccessful. /Смотри фиг. 2 и протокол обработки солями/. Соответственно стало ясно, что единственными реагентами, способными обеспечить эффективное фракционирование, являются только те, которые способны обеспечить ионизованный кальций, такие как, например, хлорид кальция, гидроксид кальция, лактат и глюконат кальция, при этом хлорид кальция обеспечивает значительно лучше разделение при низких концентрациях.

При обращении к фиг. 3 видно, что лучшее отделение каротиноидов в отдельную порцию твердого осадка из каротиноидсодержащей жидкой фракции каротиноидсодержащего природного источника может быть достигнуто добавлением хлорида кальция с концентрацией от 0,01 до 10 мас.%, предпочтительно от 0,05 до 3 мас.%, гидроксида кальция с концентрацией от 0,01 до 10 мас.%, предпочтительно от 0,05 до 3 мас.%, лактата кальция с концентрацией от 2 до 10 мас.%, предпочтительно от 2 до 4 мас.%, и глюконата кальция с концентрацией от 4 до 10 мас.%, предпочтительно от 4 до 6 мас.%, при этом наилучшее полное

отделение достигается при использовании хлорида кальция.

При обращении к фиг. 1 и табл. 1 видно, что жидкая фракция может быть в значительной степени фракционирована путем ее нагревания до температуры по крайней мере 60°C.

Отделение жидкой фракции путем обработки перечисленными осадителями каротиноидов в соответствии со способом изобретения может быть достигнуто при окружающих условиях. Однако с целью увеличения скорости разделения жидкую фракцию предпочтительно нагревают до температуры около 40°C и предпочтительно между 40 и 60°C, при этом осуществляют обработку одним из перечисленных осадителей каротиноидов.

Эффективное фракционирование может быть получено путем обработки жидкой фракции одним из перечисленных осадителей каротиноидов в течение лишь одной минуты. /Смотри табл. 2/. Хотя на оптимальное время контактирования может воздействовать несколько факторов, такие как применяемый осадитель каротиноидов, концентрация осадителя каротиноидов, температура жидкой фракции и вид каротиноидсодержащего источника, эффективное фракционирование обычно происходит менее чем за 1 ч, а более конкретно менее чем за 30 мин. Обычно оптимального фракционирования достигают для морковного сока, нагретого до слегка повышенной температуры и обработанного одним из перечисленных осадителей каротиноидов при времени контактирования от 5 до 10 мин. Время контакта менее 5 мин приводит к слегка уменьшенному эффективному разделению, в то время как время контактирования более 10 мин приводит к незначительному дополнительному разделению.

Думается, что оптимальное фракционирование может также быть получено путем обработки жидкой фракции одним из перечисленных осадителей каротиноидов в течение менее 5 мин, возможно менее 1 мин при использовании температур 80 - 120°C.

При обращении к фиг. 4 и табл. 4 видно, что pH жидкой фракции может воздействовать на скорость отделения и эффективность полного разделения. Морковный сок имеет естественный pH около 6,0. При использовании морковного сока, имеющего pH от 6,0 до 7,0, который устанавливают, когда это необходимо NaOH, обеспечивают наиболее полное разделение, в то время как при установлении pH от 10 до 11 обеспечивается почти мгновенное разделение после добавления осадителя каротиноидов.

Отделение порции твердого осадка, обогащенного каротиноидами, от порции жидкости, обедненной каротиноидами, может быть достигнуто известным способом, включающим сушку вымораживанием при центрифугировании /декантации/, термическую сушку при центрифугировании /декантации/, термическую сушку, выпаривание и т.п.

Твердую порцию, обогащенную каротиноидами, можно использовать без дальнейшей обработки, когда желателно пигментирование, обеспеченное

концентрированными каротиноидами. При желании твердую порцию, обогащенную каротиноидами, можно затем очистить путем отделения каротиноида/ов/ от других осажденных компонентов, таких как зола, углеводороды, липиды и протеины, и получить более концентрированный каротиноидсодержащий продукт путем использования известных технологий очистки, таких как химический и ферментный гидролиз, химическое и ферментное разложение, жидкость-жидкостная экстракция, твердофазная экстракция и т.д.

Протокол сравнительных испытаний.

Морковь перемалывали в дробилке, и полученный сок отделяли от пульпы путем центрифугирования или выжимания. Сок разделяли на три 40-мл пробы и поместили в 125-мл колбы Эрленмейера. Первую из проб оставили необработанной. Вторую из проб нагревали погружением пробы в водяную баню, сохраняемую при температуре 60 °C, на 20 мин. Третью из проб обработали дигидратом хлорида кальция, а затем нагрели погружением пробы в водяную баню, сохраняемую при 60 °C, на 20 мин.

Пробы центрифугировали в течение 15 мин при 2000 x g для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулы подвергали сушке вымораживанием. Гранулы, подвергнутые сушке вымораживанием, анализировали на

содержание α и β -каротина, используя высокоэффективную жидкостную хроматографию /HPLC/ в соответствии с протоколом HPLC, приведенным ниже.

Протокол HPLC.

Гранулы, подвергнутые сушке вымораживанием, измельчали пестиком в ступке. Приблизительно 0,025 г каждой пробы добавили к 4 мл воды. Затем эту смесь экстрагировали 3 порциями, каждая по 10 мл, смеси, состоящей из петролейного эфира и ацетона при соотношении эфира к ацетону 50:50 об/об, и фильтровали через воронку Бюхнера. Фильтровальный осадок удаляли, а фильтрат выпаривали до остаточного влагосодержания в атмосфере азота.

Образующийся сухой экстракт ресуспендировали в 4 мл чистого хлороформа. 1 мл пробы ресуспендированного экстракта разбавили 4 мл хлороформа. Разбавленный экстракт фильтровали через 0,45 μ m фильтр, а затем анализировали высокочувствительной жидкостной хроматографией в соответствии с процедурой, описанной в Journal of Food Science т. 52, N 3, с. 744 - 746, 1987 на содержание α и β -каротина.

Содержание каротина в пробе вычисляли путем сравнения области пика с областями пика достоверных стандартных известных концентраций, полученных от Sigma Chemical Co. Используемыми стандартными концентрациями были 12,5, 25,0, 50,0, 100,0 μ g/мл. Количество α и β -каротина в мг на 1 г сухого твердого материала представлено на фиг. 1.

Протокол испытаний, включающих обработку различными солями.

Морковь перемалывали в дробилке, а полученный сок отделяли от пульпы центрифугированием или выжиманием. Сок разделили на 40-мл пробы и поместили в

125-мл колбы Эрленмейера. Отдельные пробы обрабатывали солью, выбранной из хлорида натрия, гидроксида калия, гексагидрата хлорида магния, дигидрата хлорида кальция, гидроксида кальция, лактата кальция и глюконата кальция, хлорида калия, гидроксида натрия, карбоната кальция, фосфата кальция с концентрацией 0,5, 1,0 и 2 мас.% в течение 60 мин. Наблюдаемую степень разделения регистрировали в соответствии с номенклатурой, приведенной ниже.

Номенклатура:

- 0 - нет разделения;
- 1 - легкое разделение;
- 2 - значительное разделение;
- 3 - хорошее разделение;
- 4 - превосходное разделение.

Наилучшая степень разделения, достигнутая для каждой из солей при испытываемых концентрациях, нанесена на фиг. 2. Обработанные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 20°C и 2000 x г для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулу подвергали сушке вымораживанием.

Протокол испытаний, включающих обработку солями кальция.

Морковь перемалывали в дробилке, а полученный сок отделяли от пульпы центрифугированием или выжиманием. Сок разделили на 40-мл пробы и поместили в 125-мл колбы Эрленмейера. Аналогичные пробы обрабатывали солью кальция, выбранной из дигидрата хлорида кальция, карбоната кальция, фосфата кальция, гидроксида кальция, лактата кальция и глюконата кальция, при концентрации 1, 2 и 4 миллимоль в течение 60 мин. Наблюдаемую степень разделения регистрировали в соответствии с номенклатурой, приведенной ниже.

Номенклатура:

- 0 - нет разделения;
- 1 - легкое разделение;
- 2 - значительное разделение;
- 3 - хорошее разделение;
- 4 - превосходное разделение.

Степень разделения, достигнутая для каждой соли кальция для каждой концентрации, нанесена на фиг. 3.

Обработанные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 25°C и 2000 x г для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулу подвергали сушке вымораживанием.

Протокол испытаний, включающих нагревание и солевую обработку.

Морковь перемалывали в дробилке, а полученный сок отделяли от пульпы путем центрифугирования и выжиманием. Сок разделили на 40-мл пробы и поместили в 125-мл колбы Эрленмейера. Пробы обрабатывали определенной солью /вид соли/ в количестве /г соли/, представленном в табл. 2, погрузили в водяную баню, находящуюся при постоянной температуре, и нагревали до 60°C в течение времени /время контактирования/, представленного в табл. 2. Наблюдаемую степень разделения регистрировали в соответствии с номенклатурой, приведенной ниже.

Номенклатура:

- 0 - нет разделения;
- 1 - легкое разделение;
- 2 - значительное разделение;

3 - хорошее разделение;

4 - превосходное разделение.

Обработанные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 25°C и 2000 x г для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулу подвергали сушке вымораживанием.

Протокол испытаний, включающих нагревание, обработку солью и ферментом.

Морковь перемалывали в дробилке, а полученный сок отделяли от пульпы центрифугированием или выжиманием. Сок разделили на 40-мл пробы и поместили в 125-мл колбы Эрленмейера. Пробы обрабатывали ферментом определенного вида /вид фермента/ в количестве /г фермента/, приведенном в табл. 3. Пробу, содержащую фермент, погрузили в водяную баню, находящуюся при постоянной температуре, и нагревали до температуры, приведенной в табл. 3 /температура бани/, в течение периода времени, представленного в табл. 3 /время контакта с ферментом при нагревании/.

Пробы, обработанные ферментом при нагревании, обрабатывали солью определенного вида /вид соли/ в количестве /г соли/, приведенном в табл. 3, в течение периода времени /время контакта с солью/, приведенного в табл. 3. Наблюдаемое разделение регистрировали в соответствии с номенклатурой, приведенной ниже.

Номенклатура:

- 0 - нет разделения;
- 1 - легкое разделение;
- 2 - значительное разделение;
- 3 - хорошее разделение;
- 4 - превосходное разделение.

Обработанные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 25°C и 2000 x г для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулу подвергали сушке вымораживанием.

Протокол испытаний, включающих обработку CaCl₂ при определенном pH.

Морковь перемалывали в дробилке, а полученный сок отделяли от пульпы центрифугированием или выжиманием. Сок разделили на 40-мл пробы и поместили в 125-мл колбы Эрленмейера. Установили pH до 8, 9, 10 или 11 раствором 10 NaOH, а затем обрабатывали 0,294 г дигидрата хлорида кальция в течение 30 мин. Наблюдали превосходное разделение для всех проб. Регистрировали время, необходимое для достижения превосходного разделения после добавления хлорида кальция.

Номенклатура:

- 0 - нет разделения;
- 1 - легкое разделение;
- 2 - значительное разделение;
- 3 - хорошее разделение;
- 4 - превосходное разделение.

Обработанные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 25°C и 2000 x г для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулу подвергали сушке вымораживанием.

Протокол испытаний, включающих нагревание, обработку солью при различных pH.

Морковь перемалывали в дробилке, а полученный сок отделяли от пульпы центрифугированием или выжиманием. Сок разделили на 40-мл пробы и поместили в 125-мл колбы Эрленмейера. pH всех проб

установили раствором 10 NaOH, как показано в табл. 4, обработали 0,294 г дигидрата хлорида кальция, а затем погрузили в водяную баню, находящуюся при постоянной температуре, и нагревали до 60°C в течение 10 мин. Для всех проб наблюдали превосходное разделение. Наблюдаемую степень разделения зарегистрировали в соответствии с номенклатурой, приведенной ниже.

Обработанные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 25°C и 2000 x г для получения твердой гранулы и жидкого отстоя. Отстой декантировали с твердой гранулы, а гранулы подвергали сушке вымораживанием.

Обработка 40 мл пробы всего морковного сока 0,01 мас.% пектиназы /инкубация при 30 °C в течение 18 ч/ не привела к видимому разделению. Последующее добавление 0,001 моль Ca⁺⁺ в виде CaCl₂ • H₂O стимулировало разделение в течение 3 мин, что привело к получению чистого отстоя и хорошо различимой каротиноидной составляющей за 1 ч. Это показывает, что разложение пектина, присутствующего во всем морковном соке, не влияет на отделение каротиноидов, когда используют только его, но может содействовать в ускорении разделения, когда его используют.

Пояснения к таблицам.

b - проба, а при постоянном перемешивании со скоростью 87 оборотов в минуту во время погружения в водяную баню.

bb - проба при постоянном перемешивании со скоростью 85 оборотов в минуту во время погружения в водяную баню.

c - последовательность: к пробе добавляли фермент и соль, после чего производили тепловую обработку.

сс - последовательность: фермент и соль добавляли поочередно во время тепловой обработки.

Испытание N S с теми же номерами десятков /110S, 120 S и т.д./ указывает, что испытания проводили при использовании того же самого источника морковного сока. Испытание N S отличается только обозначением /a/, /b/, указывает на пару идентично обработанных проб.

Описание, включая примеры, намерено способствовать полному и неограниченному пониманию изобретения. Хотя могут быть выполнены различные варианты изобретения без отклонения от смысла и сферы изобретения, сфера изобретения находится в приложенной далее формуле изобретения.

Формула изобретения:

1. Способ экстракции каротиноидов из каротиноидсодержащего природного источника, включающий измельчение природного источника, разделение его на жидкую каротиноидсодержащую фракцию и фракцию пульпы, контактирование каротиноидсодержащей жидкой фракции с осадителем для фракционирования жидкой фракции на твердый осадок, обогащенный каротиноидами, и жидкую часть, обедненную каротиноидами, отделение твердого осадка, обогащенного каротиноидами от жидкой части, обедненной каротиноидами, отличающийся тем, что в качестве осадителя используют хлорид кальция, взятый в эффективном фракционирующем количестве.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в

качестве природного источника используют морковь.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что хлорид кальция используют в количестве 0,01 - 10 мас.%.
5

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что хлорид кальция используют в количестве 0,05 - 3 мас.%.
10

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с хлоридом кальция осуществляют при окружающих условиях.
15

6. Способ по п.1, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с хлоридом кальция проводят при температуре выше 40 °C.

7. Способ по п.1, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с хлоридом кальция ведут при температуре 40 - 60°C.
20

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с хлоридом кальция осуществляют в течение времени по крайней мере около 10 мин.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с хлоридом кальция ведут 10 - 30 мин.
25

10. Способ по п.1, отличающийся тем, что pH жидкой фракции устанавливают 6 - 8.

11. Способ экстракции каротиноидов из каротиноидсодержащего природного источника без использования
30

углеводородного растворителя, включающий измельчение природного источника, разделение его на жидкую каротиноидсодержащую фракцию и фракцию пульпы, контактирование
35

каротиноидсодержащей жидкой фракции с осадителем для фракционирования жидкой фракции на твердый осадок, обогащенный каротиноидами, и жидкую часть, обедненную каротиноидами, отделение твердого осадка,
40

обогащенного каротиноидами, от жидкой части, обедненной каротиноидами, отличающийся тем, что в качестве осадителя
45

используют хлорид кальция, или гидроксид кальция, или лактат кальция, или глюконат кальция в эффективном фракционирующем
50

количестве, который не содержит углеводородного осадителя, а отделение
45

твердого осадка, обогащенного каротиноидами, от жидкой части, обедненной каротиноидами, проводят без использования
50

углеводородного растворителя для образования твердого экстракта,
55

обогащенного каротиноидами, который не контактирует с углеводородным растворителем во время экстракции.

12. Способ по п.11, отличающийся тем, что в качестве природного источника используют морковь.
60

13. Способ по п.11, отличающийся тем, что в качестве осадителя используют хлорид кальция или гидроксид кальция в количестве 0,01 - 10 мас.%.
55

14. Способ по п.11, отличающийся тем, что в качестве осадителя используют хлорид кальция или гидроксид кальция в количестве 0,05 - 2 мас.%.
60

15. Способ по п.11, отличающийся тем, что лактат кальция используют в количестве 2 - 10 мас.%, а глюконат кальция в количестве 4 - 10 мас.%.
60

16. Способ по п.11, отличающийся тем, что лактат кальция используют в количестве 2 - 4 мас.%, а глюконат кальция в количестве 4 - 6

мас. %.

17. Способ по п.11, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем осуществляют при окружающих условиях.

18. Способ по п.11, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем проводят при температуре около 40°C.

19. Способ по п.11, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем ведут при температуре 40 - 60°C.

20. Способ по п.11, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем осуществляют при температуре 80 - 120°C.

21. Способ по п.19, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем проводят менее 1 ч.

22. Способ по п.19, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем ведут менее 30 мин.

23. Способ по п.19, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем осуществляют менее 20 мин.

24. Способ по п.20, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем проводят менее 10 мин.

25. Способ по п.20, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем ведут менее 5 мин.

26. Способ по п.20, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем осуществляют менее 2 мин.

27. Способ по п.20, отличающийся тем, что контактирование жидкой фракции с осадителем проводят менее 1 мин.

28. Способ по п.11, отличающийся тем, что рН жидкой фракции устанавливают 6 - 8.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Таблица 1

Сравнение концентраций каротина, каротин, обработанный нагреванием/обработанный кальцием/необработанный каротин

| | Температура бани, °С | Время контакта в бане /мин/ | Соль | | Концентрация | | |
|-------|----------------------|-----------------------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| | | | вид соли | /миллимоли/ | мг/г | мг/г | |
| # 100 | - | - | - | - | (0.679) [72.0] | (0.683) [72.5] | (1.362) [144.5] |
| 101 | 60 | 20 | - | - | (3.73) [46.75] | (6.40) [80.0] | (10.13) [126.75] |
| 102 | 60 | 20 | CaCl ₂ | 2 | (4,48) [56.0] | (7.96) [99.5] | (12.44) [155.5] |

φ

Наблюдение: Как тепловая обработка, так и обработка хлоридом кальция морковного сока привела к получению коагулянта, который был высоко обогащен α и β-каротином. Большую часть α и β-каротина из всего сока извлекали этими способами. Тепловая обработка в сочетании с обработкой кальцием привела к увеличению общего каротина /α и β/, извлечение которого составило 23% только за счет тепловой обработки.

Нагревание + неорганические соли

| # | Вид контакта /мин/ | Вид соли | Соль /г/ | Степень разделения |
|------------|---|---------------------|----------|--------------------|
| 200a | 20 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 200b | 20 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 201a | 20 | Ca(OH) ₂ | (0.148) | 4 |
| 201b | 20 | Ca(OH) ₂ | (0.148) | 4 |
| Cntrl | 10 | - | - | 4 |
| Cntrl | 10 | - | - | 4 |
| Cntrl | 20 | - | - | 4 |
| Cntrl | 20 | - | - | 4 |
| 210a | 05 | CaCl ₂ | (0.147) | 4 |
| 210b | 05 | CaCl ₂ | (0.147) | 4 |
| 211a | 10 | CaCl ₂ | (0.147) | 4 |
| 211b | 10 | CaCl ₂ | (0.147) | 4 |
| 212a | 20 | CaCl ₂ | (0.147) | 4 |
| 212b | 20 | CaCl ₂ | (0.147) | 4 |
| 213a | 05 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 213b | 05 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 214a | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 214b | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 215a | 20 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 215b | 20 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 216a | 05 | CaCl ₂ | (0.544) | 4 |
| 216b | 05 | CaCl ₂ | (0.544) | 4 |
| 217a | 10 | CaCl ₂ | (0.544) | 4 |
| 217b | 10 | CaCl ₂ | (0.544) | 4 |
| 218a | 20 | CaCl ₂ | (0.544) | 4 |
| 218b | 20 | CaCl ₂ | (0.544) | 4 |
| Испытание: | Комментарии | | | |
| 200a/b | Разделение было превосходным. Отстой был светлым, а гранулы очень твердыми. Декантация была очень легкой. | | | |
| 201a/b | Разделение было превосходным. Гранулы очень твердыми. Декантация была очень легкой. | | | |

RU 2111991 C1

RU 2111991 C1

Таблица 3

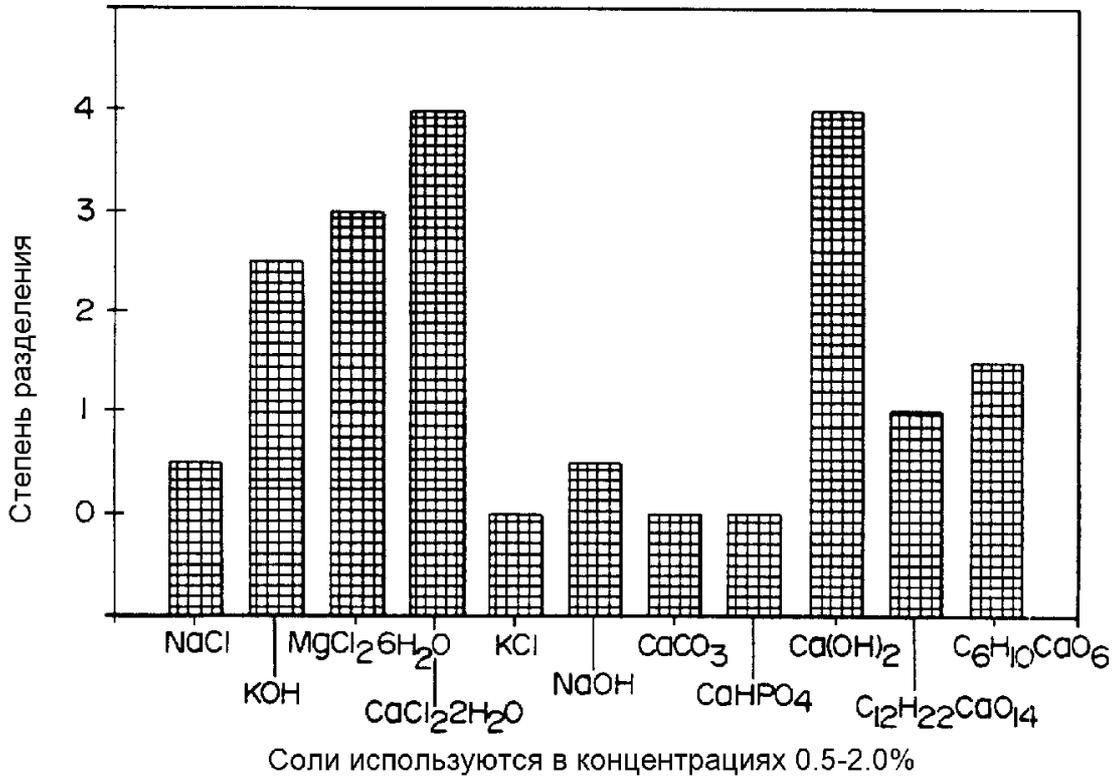
Нагревание + неорганические соли + ферменты

| № # | Температура бани, °С | Время обработки ферментом при нагреве /час/ | Время обработки солью | Вид соли | Вид фермента | | Фермент /г/ | Степень разделения |
|------|----------------------|---|-----------------------|-------------------|--------------|-----------|-------------|--------------------|
| | | | | | Соль /г/ | Фермента | | |
| 300a | 40 | 05 ^{ab} | 05 ^c | CaCl ₂ | (0.4) | протеаза | (0.004) | 4 |
| 300b | 40 | 05 ^{bb} | 05 ^c | CaCl ₂ | (0.4) | протеаза | (0.004) | 4 |
| 310a | 30 | 18 ^b | 01 ^{cc} | CaCl ₂ | (0.147) | пектиназа | (1 мл) | 4 |
| 310b | 30 | 18 ^b | 01 ^{cc} | CaCl ₂ | (0.147) | пектиназа | (1 мл) | 4 |

Наблюдения: Обработка 40 мл пробы всего морковного сока 0,01% мас. протеазы/инкубация при 40°С в течение 5 ч/ не привела к видимому разделению. Последующее добавление 0,0027 моль Са⁺⁺ в виде СаСl₂·Н₂О дало быстрое разделение, в результате которого было получено осветление отстоя и снижение вязкости каротиноидов по сравнению с таковыми, которых достигают обычно. Это показывает, что разложение протеина, присутствующего во всем морковном соке, не влияет на отделение каротиноидов, когда используют его, но может содействовать в достижении более высокого разделения, когда его используют в сочетании с обработкой кальцием.

Нагревание + неорганическая соль с регулированием pH

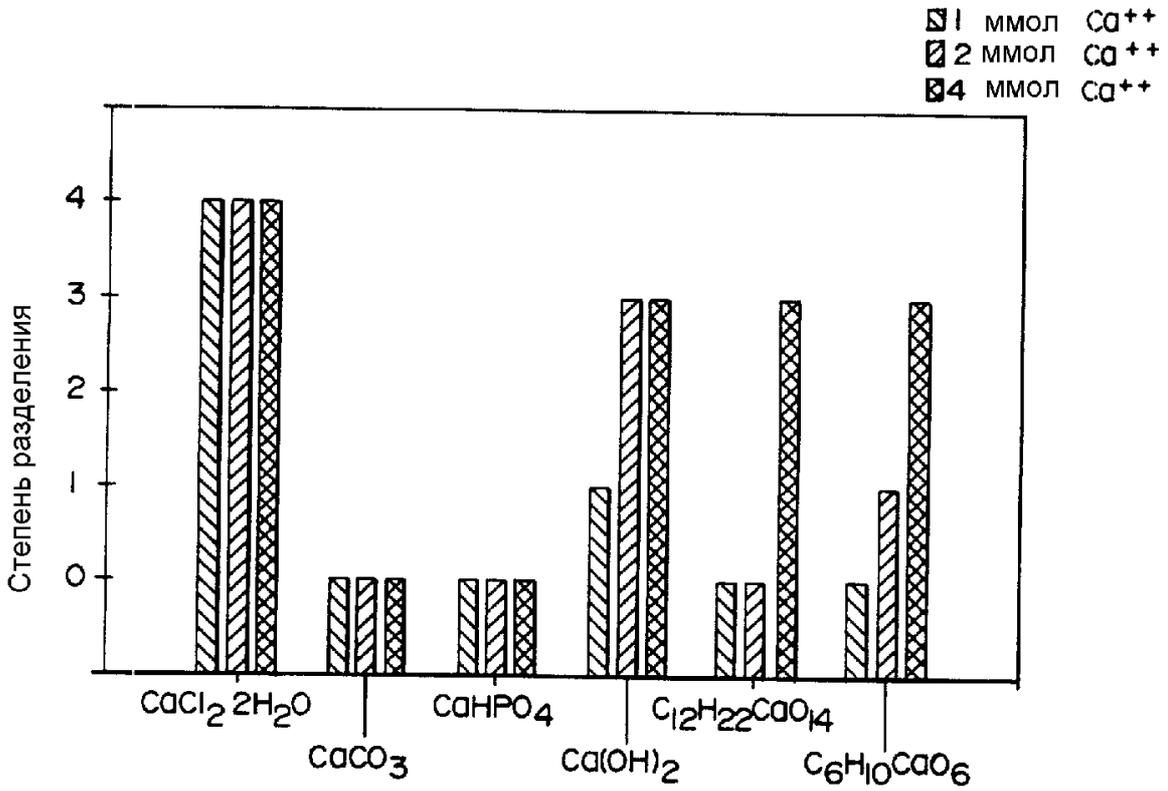
| № # | pH | Температура бани, °С | Время контак-та, /мин/ | Вид соли | Соль /г/ | Степень разделения |
|-------|-------|----------------------|------------------------|-------------------|----------|--------------------|
| Cntrl | - | - | - | - | - | 0 |
| Cntrl | - | - | - | - | - | 0 |
| 400a | 6.50 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 400b | 6.50 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 401a | 7.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 401b | 7.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 402a | 8.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 402b | 8.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 403a | 9.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 403b | 9.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 404a | 10.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 404b | 10.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 405a | 11.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |
| 405b | 11.00 | 60 | 10 | CaCl ₂ | (0.294) | 4 |



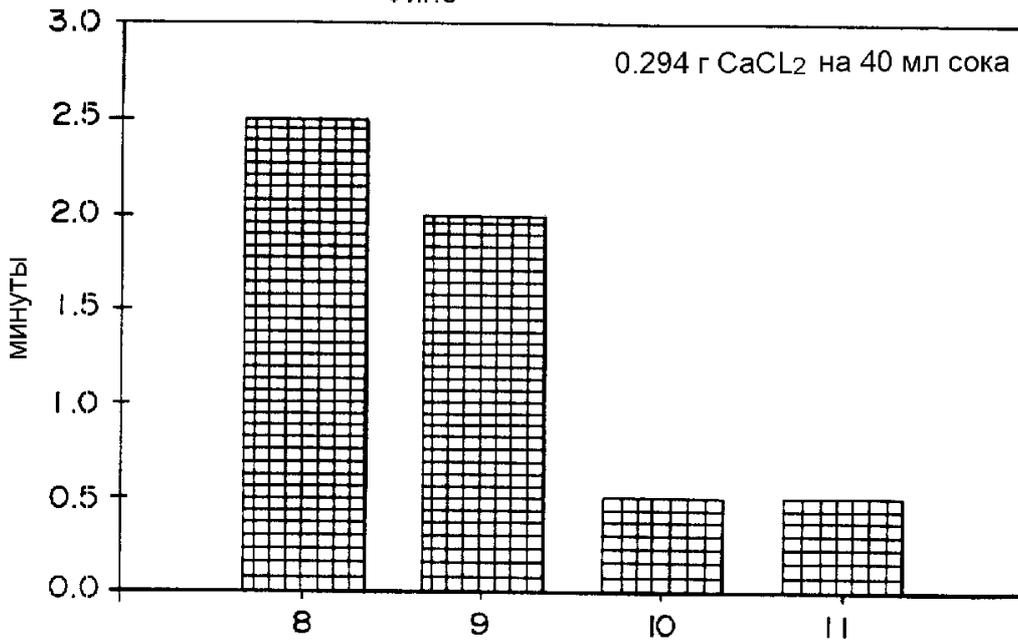
Фиг.2

RU 2111991 C1

RU 2111991 C1



Фиг.3



РН достигнута с помощью щелочи (NaOH)

Фиг.4