



(19) KG (11) 954 (13) C1 (46) 31.05.2007

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПАТЕНТНАЯ СЛУЖБА
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(51) C09B 61/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики под ответственность заявителя (владельца)

(19) KG (11) 954 (13) C1 (46) 31.05.2007

(21) 20050074.1

(22) 21.07.2005

(46) 31.05.2007, Бюл. №5

(71)(73) Кыргызский государственный горный университет (KG)

(76) Токтосунова Б., Адышева А., Батракеева Г.Э., Токтобаева Ч.К. (KG)

(56) Ульянова М.С., Соболева Г.А., Захарова Н.С., Бокучава М.А. Выделение пигментов из корнеплодов столовой свеклы // Прикладная биохимия и микробиология, 1975. – Т. XI. – №1. – С. 102-106

(54) Способ выделения пигмента бетанина

(57) Предлагаемое изобретение относится к области пищевой и медицинской промышленности, может быть использовано для окраски пищевых продуктов и в качестве антидотного средства в медицине. Задачей изобретения является упрощение способа выделения пигмента бетанина, уменьшение себестоимости продукта и осуществление безотходной технологии перерабатывающей промышленности. Поставленная задача решается в способе выделения пигмента бетанина, включающего хроматографирование и экстракцию пигментов, где выжимки столовой свеклы с влажностью 35-45% экстрагируют охлаждённым этиловым спиртом (+2°C) при соотношении массы выжимок к спирту 1:5-6 последующим разделением экстракта пигмента охлаждённым ацетоном (+2°C) при соотношении экстракта пигмента и ацетона 1:2. 1 н. п. ф-лы, 11 пр., 2 табл., 2 ил.

Предлагаемое изобретение относится к области пищевой и медицинской промышленности, может быть использовано для окраски пищевых продуктов и в качестве антидотного средства в медицине.

Наиболее близким к предлагаемому изобретению является способ выделения пигментов из столовой свеклы при помощи метода гельфильтрации, лиофилизации суммарных фракций пигментов с последующим растворением их в дистиллированной воде, сушки в вакууме, разделения пигментов на отдельные бетацианины и бетаксантини на хроматографической колонке, элюирования, концентрирования пигментов, дальнейшей очисткой пигментов на полиамиде, затем на ионообменной смоле Дауэкса 50 W x 2 в H⁺ форме pH = 3.0; затем пигмент бетанин смывают со смолы дистиллированной водой, концентрируют в вакууме, остаток высушивают в вакуум-ексикаторе над безводным CaCl₂ (Ульянова М.С., Соболева Г.А., Захарова Н.С., Бокучава М.А. Выделение пигментов из корнеплодов столовой свеклы // Прикладная биохимия и микробиология, 1975. – Т. – XI. – №1. – С. 102-106).

Недостатком известного способа является многостадийность технологических операций, недоступность иной раз технологической аппаратуры.

Задачей изобретения является упрощение способа выделения пигмента бетанина, уменьшение себестоимости продукта и осуществление безотходной технологии перерабатывающей промышленности.

Поставленная задача решается в способе выделения пигмента бетанина, включающем хроматографирование и экстракцию пигментов, где выжимки столовой свеклы с влажностью 35-45% экстрагируют охлаждённым этиловым спиртом (+2°C) при соотношении массы выжимок к спирту 1:5-6 с последующим разделением экстракта пигмента охлаждённым ацетоном (+2°C) при соотношении экстракта пигмента и ацетона 1:2.

Сущность предложенного способа состоит в том, что свежие выжимки с влажностью 35-45% экстрагируют охлажденным этиловым спиртом (+2°C) до прозрачного цвета экстракта. Соотношение массы выжимок к экстрагенту составляет по весу 1:5-6. Далее к спиртовому экстракту добавляют охлажденный разделитель пигментов – ацетон (соотношение экстракт и ацетон 1:2). Для дальнейшей очистки пигментов смесь пропускают через хроматографическую колонку, заполненную микрокристаллической целлюлозой высотой 10 см, диаметром 1 см. При этом появляются две окрашенные зоны, где бордовая – с бетанином, желтая – с бетаксантином. Пигменты отделяют вместе с адсорбентом от колонки, затем каждый продукт в отдельности элюируют дистиллированной водой. Раствор бетанина концентрируют, высушивают в вакуум-эксикаторе над хлористым кальцием.

Спиртом извлекают вместе с водой только растворимые в водно-спиртовом комплексе пигменты выжимок столовой свеклы.

В качестве разделителя пигментов (бетанина, бетаксантин) применяют ацетон.

Оптимальное соотношение массы свежих выжимок с влажностью 35-45% к экстрагенту является 1:5-6. В таком соотношении водно-спиртовой смеси экстрагируются только главные пигменты сока столовой свеклы – бетанин с бетаксантином, который от последнего легко отделяют с помощью ацетона.

Уменьшение влажности выжимок < 35% по отношению к экстрагенту (спирту) приводит к уменьшению количества пигментов в экстрагенте (таблица 1), а при увеличении > 45% экстрагируются другие водорастворимые компоненты выжимок, в результате чего усложняется технология очистки целевого продукта (бетанина).

Объем экстрагента к ацетону составляет 1:2. Уменьшение объема разделителя пигментов приводит к увеличению количества бетанина в составе надосадочной жидкости (визуально), а увеличение его объема не имеет смысла.

Пример 1.

85 г свежих выжимок с влажностью 35% экстрагируют в 335 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) до прозрачного цвета экстрагента. При этом отношение массы выжимок к экстрагенту по весу составляет 1:5. Затем к 250 мл спиртового экстракта добавляют 500 мл охлаждённого ацетона (+2°C). Для дальнейшей очистки пигментов смесь пропускают через хроматографическую колонку, заполненную микрокристаллической целлюлозой, высотой 10 см, диаметром 1 см.

При этом появляются две окрашенные зоны: I – бордовая (бетанин), II – желтая (бетаксантин). Пигменты отделяют вместе с адсорбентом от колонки, после чего каждый в отдельности элюируют дистиллированной водой. Затем раствор бетанина концентрируют, сушат над хлористым кальцием (CaCl_2). Выход бетанина – 1.02 г, что составляет 1.19%.

Пример 2. В количестве 85 г свежие выжимки столовой свеклы с влажностью 35% экстрагируют в 369 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:5.5. Затем в 250 мл спиртового экстракта добавляют охлаждённый ацетон (+2°C) в количестве 500 мл. Дальнейшую очистку пигментов проводят на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 0.92 г, что составляет 1.07%.

Пример 3. Для экстракции пигментов к 85 г свежих выжимок столовой свеклы с влажностью 35% добавляют 403 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:6. Смесь пигментов разделяют охлаждённым ацетоном (+2°C), для чего к 250 мл спиртового экстракта пигмента добавляют 500 мл ацетона с последующей очисткой пигментов на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 0.84 г, что составляет 0.97%.

Пример 4. Свежие выжимки столовой свеклы в количестве 85 г с влажностью 40% экстрагируют в 335 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:5. Для разделения пигментов к 250 мл спиртового экстракта добавляют 500 мл охла-

ждённого ацетона (+2°C). Дальнейшую очистку пигментов проводят на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 1.14 г, что составляет 1.33%.

Пример 5. 85 г свежих выжимок столовой свеклы с влажностью 40% экстрагируют в 369 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C). При этом соотношение массы выжимок к экстрагенту составляет 1:5.5. Затем к 250 мл спиртового экстракта добавляют 500 мл охлаждённого ацетона (+2°C). Очистку пигментов проводят на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 1.043 г, что составляет 1.22%.

Пример 6. Свежие выжимки столовой свеклы в количестве 85 г с влажностью 40% экстрагируют в 403 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) до прозрачного цвета экстрагента. Соотношение массы выжимок к экстрагенту составляет 1:6. Последующую очистку пигментов на хроматографической колонке проводят, как в примере 1. Выход – 0.959 г, что составляет 1.09%.

Пример 7. 85 г свежих выжимок столовой свеклы с влажностью 45% экстрагируют в 335 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:5. Для разделения пигментов к 250 мл спиртового экстракта добавляют 500 мл охлаждённого ацетона (+2°C). Дальнейшую очистку пигментов проводят на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 1.263 г, что составляет 1.48%.

Пример 8. 85 г свежих выжимок столовой свеклы с влажностью 45% экстрагируют в 369 мл охлаждённого этилового спирта при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:5.5. Затем к 250 мл спиртового экстракта пигментов добавляют 500 мл охлаждённого ацетона. После разделения пигментов, очищают на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 1.152 г, что составляет 1.35%.

Пример 9. Для экстрагирования красящих веществ к 85 г свежих выжимок столовой свеклы с влажностью 45% добавляют 403 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) при соотношении массы выжимок к экстракту 1:6. Для разделения пигментов к 250 мл спиртового экстракта добавляют 500 мл охлаждённого ацетона (+2°C) с последующей очисткой пигmenta на хроматографической колонке, как в примере 1. Выход – 1.049 г, что составляют 1.22%.

Пример 10. В свежие выжимки столовой свеклы (85 г) с влажностью 35% добавляют 335 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:5. Затем фильтруют, к фильтрату добавляют охлаждённый ацетон (+2°C), после чего смесь подвергают центрифугированию в течение 15 мин (8 тыс. об/мин). Дальнейшее продолжение времени центрифугирования к другому результату не приводит. При центрифугировании бетанин оседает, а бетаксантин остается в фугате. Бетанин отделяют от надосадочной жидкости и сушат с помощью влагоулавливающего растворителя (ацетона) с последующей сушкой в эксикаторе над хлористым кальцием (CaCl_2). Выход – 1.022, что составляет 1.0%.

Пример 11. 85 г выжимок столовой свеклы с влажностью 35% экстрагируют в 335 мл охлаждённого этилового спирта (+2°C) до прозрачного цвета экстракта при соотношении массы выжимок к экстрагенту 1:5. Для разделения пигментов к 250 мл спиртового экстракта добавляют 500 мл охлаждённого ацетона (+2°C). Осадок отделяют от надосадочной жидкости, промывают его ацетоном до прозрачного цвета раствора. Затем осадок растворяют в дистиллированной воде и пропускают через хроматографическую колонку, как в примере 1. При этом на хроматографической колонке проявляется только одна полоска красно-фиолетового цвета. Пигмент элюируют дистиллированной водой. Скорость элюации 40 мл/час. Раствор пигmenta концентрируют в роторном испарителе при 35°C с последующей сушкой в вакуум-эксикаторе над хлористым кальцием (CaCl_2). По спектральному анализу пик поглощения соответствует бетанину (рис. 1). Выход бетанина – 1.013 г, что составляет 1.19 %.

Из приведенных примеров, кроме бетанина (пример 11) и бетаксантин (примеры 1 и 10) на хроматографической колонке или на УФ-спектрах проявляется участие других бетацианинов.

По спектральному анализу бетанин, выделенный по примерам 1 и 10, дает ярко выраженное максимум поглощения в области – 545 нм (рис. 1), а бетаксантин, полученный по примеру 10, дает еле заметное проявление, характерное для него в области – 477 нм (рис. 2а), напротив яркое проявление в этой области бетаксантин, выделенного по примеру 1.

Преимуществами предлагаемого способа по сравнению с известным являются:

- упрощение процесса (в известном 15 технологических операций, а в предлагаемом – 8);
- уменьшение себестоимости продукта за счет простоты аппаратурного оформления технологии (в известном используют гельфильтрацию, лиофильную и вакуумную сушилку, хро-

матографическую, полиамидную и ионообменную колонки, а в предлагаемом – только хроматографическую колонку и вакуумный испаритель);

– осуществление безотходной технологии за счет утилизации отходов перерабатывающей промышленности (в известном способе выжимки столовой свеклы выбрасывают как отход производства);

– применение в качестве экстрагента охлаждённого этилового спирта (+ 2°C) и разделителя пигментов – охлаждённого ацетона (+2°C) приводит к выделению чистого бетанина без балласта красящих веществ столовой свеклы;

– охлаждение этилового спирта и ацетона до (+ 2°C) особого режима не требует, эту операцию можно осуществить с помощью обычной холодильной установки.

**Таблица 1
Экстракция пигментов в зависимости от влажности выжимок**

Влажность выжимок, в %	Соотношение массы выжимок к экстрагенту	Окраска экстрагента	Проявление на хроматографической колонке
30	1:5	вишневая с розовым оттенком	две полосы: бордовая (узкая), бледно-желтая
35	1:5	вишневая	две полосы: бордовая, желтая
40	1:5	вишневая	ярко проявленные две полосы: бордовая, желтая
45	1:5	вишневая	- -
50	1:5	темно-вишневая	три полосы: бордовая, желтая, розовая (бетацианины)

Таблица 2

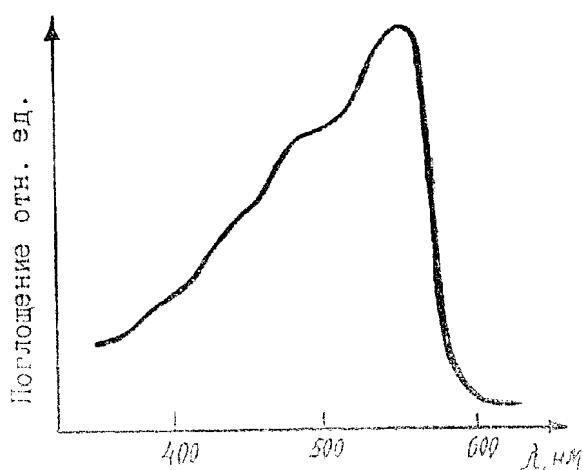
Сравнительная таблица по способу выделения пигментов столовой свеклы

Технологические операции	
По прототипу	По предложенному способу
1. Измельчение 2. Сок столовой свеклы 3. Гельфильтрация (сефадексом С-50 грубый) 4. Лиофилизация (лиофильная сушилка) 5. Вакуумная сушка (вакуумная сушилка) 6. Хроматографирование, разделение на 5 зон: I – фиолетовый цвет (бетанин) II – желтый цвет (бетаксантин) III – слабо-розовый цвет (бетацианины) III и V – слабо-желтые (бетаксантины) 7. Элюирование 8. Концентрирование пигментов 9. Очистка на полиамиде, выделение 3-х фракций: I – оранжевый цвет II – красный цвет III – фиолетовый цвет 10. Концентрирование 3-й фракции	1. Измельчение 2. Выжимка столовой свеклы (отход) 3. Экстрагирование пигментов с выжимки охлаждённым спиртом (+2°C) 4. Разделение пигментов охлаждённым ацетоном (+2°C) 5. Хроматографирование 6. Элюация 7. Концентрирование в вакууме 8. Сушка в вакуум-эксикаторе над хлористым кальцием (CaCl_2)

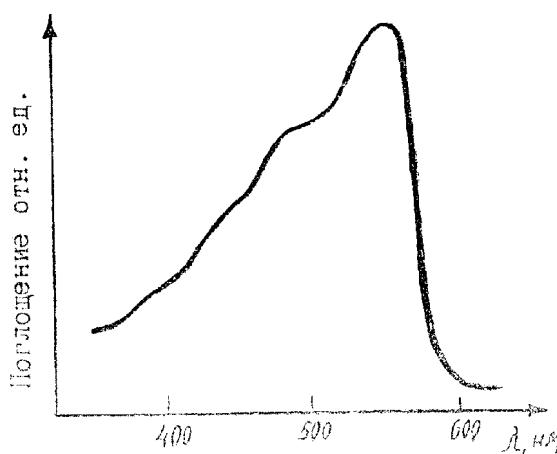
- | | |
|---|--|
| 11.. Очистка 3-й фракции на ионообменной смоле | |
| 12.. Фильтрация | |
| 13.. Элюяция бетанина бидистиллированной водой | |
| 14.. Концентрирование в вакууме | |
| 15.. Сушка в вакуум-эксикаторе над хлористым кальцием (CaCl_2) | |

Формула изобретения

Способ выделения пигмента бетанина, включающий хроматографирование и экстракцию пигментов, отличающийся тем, что выжимки столовой свеклы с влажностью 35-45% экстрагируют охлаждённым этиловым спиртом (+2°C) при соотношении массы выжимок к спирту 1:5-6 последующим разделением экстракта пигмента охлаждённым ацетоном (+2°C) при соотношении экстракта пигмента и ацетона 1:2.



Фиг. 1. Спектр поглощения бетанина
(по примерам 1 и 10)



Фиг. 2. Спектр поглощения бетаксантина
а – по примеру 10
б – по примеру 1

Составитель описания
Ответственный за выпуск

Усубакунова З.К.
Арипов С.К.