



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **111979**

(13) **C2**

(51) МПК

**C07C 403/24** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	<b>а 2014 03047</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Прасітчоке Пхатханон (ТН), Чандавасу Чая (ТН), Шотіпрук Артіван (ТН), Боонноун Панатпонг (ТН)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>24.08.2012</b>	(73) Власник(и):	<b>ПТТ ГЛОБАЛ КЕМІКАЛ ПАБЛІК КОМПАНІ ЛІМІТЕД,</b> 555/1 Energy Complex, Building A, 14th-18th Floor, Vibhavadi Rangsit Road, Chatuchak, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand (ТН), <b>ЧУЛАЛОНГКОРН ЮНІВЕРСІТІ,</b> 254 Phayathai Road Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand (ТН)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>11.07.2016</b>	(74) Представник:	<b>Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115</b>
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>1101001774</b>	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2004/267033 A1, 30.12.2004 WO 2005/068409 A1, 28.07.2005 WO 2004/018417 A1, 04.03.2004 CN 1364831 A, 21.08.2002
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>26.08.2011</b>		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>ТН</b>		
(41) Публікація відомостей про заявку:	<b>25.06.2014, Бюл.№ 12</b>		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>11.07.2016, Бюл.№ 13</b>		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>РСТ/ТН2012/000037, 24.08.2012</b>		

## (54) СПОСІБ ЕКСТРАКЦІЇ ЛЮТЕЇНУ З ПРИРОДНИХ МАТЕРІАЛІВ

### (57) Реферат:

Винахід передбачає новий спосіб екстракції лютеїну з природних матеріалів, який включає модифікування природного естеру лютеїну в природних матеріалах до вільного лютеїну з наступною екстракцією з надкритичним середовищем при оптимальних умовах.

UA 111979 C2



## Галузь винаходу

Органічна хімія стосується екстракції лютеїну/ксантофілів, зокрема, екстракції лютеїну з квітів календули з надкритичного середовища, та високо чистого лютеїну/ксантофілів, одержаних даним способом.

## 5 Передумови створення винаходу та рівень техніки

Календула (*Tagetes erecta*) є однорічною квітучою рослиною, яка має широкий діапазон кольорів трубкоподібних пелюсток. У Таїланді календули вирощують в основному в провінціях Суфанбурі, Канчанабурі, Лампун та Чіангмай. У зв'язку з високим вмістом каротиноїдів, календули, як правило, застосовують в кормах для тварин як корисні для здоров'я тварин. Крім того, яскраво-жовті та червоні кольори каротиноїдів в календулі, крім того, застосовують як природні барвники в кормах, тобто для курячого корму, що надає яєчному жовтку яскраво-червоний колір. Основними каротиноїдами в календулі є ксантофіли (аж до 1 %), зокрема, лютеїн.

Лютеїн є ксантофілом, який демонструє антиоксидантну властивість, та також входить до складу сітківки в оці. Повідомлялось, що лютеїн можуть ефективно використовувати для лікування захворювань, пов'язаних із зором та, крім того, використовувати для підтримки функцій в організмі людини. Таким чином, спосіб екстракції лютеїну з природних матеріалів викликає зацікавленість.

Однією зі спроб є екстракція лютеїну з календули, використовуючи органічний розчинник, зокрема, неполярний розчинник, такий як гексан. Речовина, яка міститься в органічному розчиннику називається мицелярною. Для отримання лютеїнового продукту, що залишався, розчинник потрібно випарити. Сирий екстракт, отриманий після випарювання розчинника, називається олеорезином. Олеорезин містить 10 % (мас/мас.) ксантофілів, в яких лютеїн є основним продуктом.

Одна з проблем полягає в тому, що необхідним є абсолютне видалення екстракційного розчинника. Залишки розчинника не повинні перевищувати міжнародного стандарту. Це пов'язано з тим, що фактично розчинник, який залишився, може викликати серйозну проблему зі здоров'ям для споживачів.

Було зроблено спробу екстрагувати лютеїн шляхом використання альтернативного розчинника, тобто надкритичного середовища, зокрема, надкритичного діоксиду вуглецю, який є більш безпечним у використанні для споживчих товарів. Крім того, надкритичний діоксид вуглецю має високу дифузійну здатність та низьку в'язкість в порівнянні з рідкими розчинниками. Надкритичний діоксид вуглецю, таким чином, є прийнятним для екстракції завдяки своїй властивості масопереносу. Більш того, його можуть застосовувати для екстракції при низькій температурі (критична температура становить 30 °C), що запобігає розкладанню або руйнуванню екстрагованих речовин. Крім того, його можуть легко видаляти шляхом зменшення тиску або зниження температури.

В патенті США № 20040267033 описано екстракцію лютеїну з календули, використовуючи надкритичний діоксид вуглецю при температурі 70 °C та тиску 475 бар, отримуючи вихід 85-90 %. Завдання даного винаходу полягає в тому, що більш висока температура повинна бути застосована для того, щоб отримати ксантофіл з більш високою чистотою, яка потрібна для застосування в нутрицевтиках або лікарських засобах. Проблема, пов'язана з підвищенням температури під час екстракції, полягає в розкладанні або руйнуванні ксантофілів, в той час як збільшення тиску, крім того, споживає більше енергії та призводить до додаткових ризиків. Таким чином, надкритичне середовище не можуть практично застосовувати в промисловій екстракції ксантофілів, зокрема високо чистого лютеїну. Спосіб за описаним вище винаходом ще має проблему з жорсткістю умов, навіть, в тому випадку, коли це може вирішити проблему безпеки рідких розчинників.

Інші взаємопов'язані документи включають патенти США 44669223, 5120558, 5932101, 6737552, 6350890, 7214379, 5780693, 6262284, 7351424 та 6689400. Даний винахідник вивчав проблеми з рівня техніки та природні властивості даної сполуки та інші ксантофіли в природі. Виявлено, що лютеїн та інші ксантофіли в природі знаходяться в основному у формі дієстеру жирної кислоти, тобто лютеїну липальмітату, лютеїну диміристату, зеаксантину дипальмітату та зеаксантину іміристату. Дані дієстери мають високі молекулярні маси, тобто лютеїн дипальмітат має молекулярну масу 1045 Дальтон, тоді як вільний лютеїн має молекулярну масу тільки в 569 Дальтон. Внаслідок цього, екстракція природного лютеїну/ксантофілів в даній молекулі, яка утворює комплекс з надкритичним середовищем вимагає високу температуру і/або високий тиск, щоб отримати вихід лютеїну/ксантофілів способом аналогічним до екстракції розчинником.

Даний винахідник виконував екстракцію лютеїну з натуральних матеріалів безпосередньо за допомогою надкритичного середовища при зниженій температурі 60 °С та варіював параметрами тиску 300, 350 та 400 бар, відповідно, протягом 4 годин, як показано на фіг. 1.

Фіг. 1 показує вихід неочищеного лютеїну, який отримують з екстракції. Хоча неочищений лютеїн, збільшений, за рахунок збільшення тиску, максимальний вихід становить тільки 74,40 % при 400 бар.

Крім того, даний винахідник піддавав неочищений лютеїн хроматографічному очищенню, встановлено, що вільний лютеїн був змішаним з дуже великою кількістю естеру лютеїну, як показано на Фіг.2.

До цих пір не існує повідомлень про екстракцію неочищеного природного лютеїну за допомогою надкритичного середовища при низькій температурі та тиску з отриманням продукту з виходом вище, ніж 90 %.

Таким чином, даний винахідник мав на меті модифікувати естер лютеїну/естер ксантофілів до вільного лютеїну/ксантофілів і/або естеру лютеїну/естері в ксантофілів з низькою молекулярною перед екстракцією надкритичними середовищами. Природні матеріали, які містять лютеїн/ксантофіли, включають календулу, капусту, шпинат, мікробні клітини, тобто бактерії, дріжджі, грибки та мікроводорості і водорості. Винахід дозволяє екстракцію неочищеного лютеїну з природних матеріалів, використовуючи надкритичні середовища при низькій температурі та тиску, але, тим не менше, забезпечує більш високий вихід.

Коротке викладення суті винаходу

Представлений винахід передбачає новий спосіб екстрагування лютеїну з природних матеріалів, який дає більш високий вихід неочищеного лютеїну і/або більш високоочищений лютеїн, ніж існував раніше.

Іншим об'єктом за даним винаходом є забезпечення способу екстракції, який є прийнятним для ксантофілів, які знаходяться в тій самій групі сполук, що і лютеїн.

Іншим об'єктом за даним винаходом є забезпечення високоочищеного лютеїну/ксантофілів, одержаного за способами відповідно до представленого винаходу.

Спосіб відповідно до даного винаходу включає модифікування природного естеру лютеїну в природних матеріалах до вільного лютеїну і/або естеру лютеїну з низькою молекулярною масою, екстракцію зазначених природних матеріалів надкритичними середовищами при оптимальних умовах. Спосіб відповідно до даного винаходу є здатним до екстракції лютеїну з природних матеріалів у великій кількості, тому що ефективність екстракції є покращеною. Неочищений лютеїн додатково можуть чистити, використовуючи хроматографію для того, щоб одержати високоочищений лютеїн.

Короткий опис креслень

Фіг. 1 Діаграма демонструє вихід неочищених лютеїнів, які екстрагують з природного матеріалу безпосередньо критичним середовищем при 60 °С, тиску 300, 350 та 400 бар.

Фіг. 2 Хроматограма неочищеного лютеїну, одержаного на Фіг. 1, яка показує невелику кількість вільного лютеїну та велику кількість естеру лютеїну.

Фіг. 3 Діаграма демонструє вихід неочищеного лютеїну, які екстрагують (з природного матеріалу після модифікації естеру лютеїну в календулі), використовуючи надкритичне середовище при температурі та тисках відповідно до даного винаходу.

Фіг. 4 Хроматограма неочищеного лютеїну, одержаного на Фіг. 3, яка показує велику кількість вільного лютеїну, який, до того ж, є високоочищеним.

Детальний опис винаходу

В даному винаході "неочищений лютеїн" означає неочищений продукт, який містить лютеїн як кінцевий продукт.

Коли спосіб відповідно до даного винаходу є прийнятним для застосування до ксантофілів в цілому/інших крім лютеїну, "неочищений лютеїн" означає неочищений продукт ксантофілів/інших крім лютеїну. Тому, слова "лютеїн" та "ксантофіли" є взаємозамінними по всьому опису винаходу.

Деталі способи екстракції лютеїну з природних матеріалів відповідно до даного винаходу описані нижче.

Спосіб екстрагування природного лютеїну включає:

а. Попередню обробку природних матеріалів, які містять лютеїн, шляхом модифікації природного естеру лютеїну в природних матеріалах до вільного лютеїну і/або естеру лютеїну з низькою молекулярною масою, що сприяє процесу екстракції.

б. Екстракцію, яка включає контактування зазначених попередньо оброблених матеріалів на стадії (а) з надкритичним середовищем, регулюючи температуру і/або тиск шляхом вибору оптимальних умов 30-100 °С, 200-450 бар для певного періоду часу, що забезпечує

максимальну розчинність вільного лютеїну і/або естеру лютеїну з низькою молекулярною масою в надкритичному середовищі.

с. Відокремлення твердих речовин від середовища після екстракції, та регулювання температури і/або тиску, щоб мінімізувати розчинність екстрагованих речовин в середовищі та збирання екстрагованих речовин, які представляють собою неочищений лютеїн.

Відповідно до зазначеного способу, згадані природні матеріали можуть бути вибрані з квітів календули, капусти, шпинату, водорості, мікробних клітини, включаючи бактерії, дріжджі, грибки та мікроводорості.

Відповідно до зазначеного способу, згадані природні матеріали гідролізуються кислотами з низькою молекулярною масою та з наступним видаленням зазначеної кислоти шляхом промивання водою, і/або висушуванням і/або, розмелюванням перед тим, як піддати обробці зазначений матеріал на стадії (а). Кислоти можуть бути органічними кислотами, тобто оцтовою кислотою, або неорганічними кислотами, тобто гідрохлоридною кислотою, тощо.

Модифікування естеру лютеїну на стадії (а) є омиленням, яке широко застосовується. Наприклад, зазначене омилення можуть здійснювати, застосовуючи КОН та етанол при оптимальній температурі та протягом часу, що залежить від природного матеріалу, який застосовують. Модифікування естеру лютеїну може бути досягнуте шляхом естерифікації кислотою з низькою молекулярною масою, тобто гідрохлоридною кислотою, та етанолом, або переестерифікації, застосовуючи КОН та метанол.

Середовище відповідно до даного винаходу можуть вибирати з діоксиду вуглецю, етанолу та їх комбінації. Однак, переважним є діоксид карбону.

В деяких випадках, в залежності від природи матеріалу, який використовують як сировину, спів-розчинник, такий як нетоксична природна олія, тобто пальмова олія, соєва олія, оливкова олія або їх комбінація, може бути використаний разом з середовищем для того, щоб покращити ефективність екстракції.

На стадії (b), екстракції середовищем, оптимальними умовами є 40-70 °C, 300-400 бар. Дані умови забезпечують максимальний вихід неочищеного лютеїну внаслідок "не занадто високої" температури та тиску, якщо порівнювати з існуючими способами.

Крім того, спосіб екстракції може додатково включати стадію (d) очистки неочищеного лютеїну, використовуючи хроматографію.

Даний винахід, крім того, стосується неочищеного лютеїнового продукту, одержаного зі способу екстракції, описаного раніше, та очищеного лютеїну, одержаного після хроматографії.

Важливо відмітити, що даний винахід не застосовує розчинник, який може викликати (часткове) розкладання під час видалення розчинника. Даний винахід застосовує модифікування естеру лютеїну безпосередньо в природних матеріалах. Превагою є відсутність втрат лютеїну перед екстракцією середовищем. В той же час. екстракція, крім того, повинна забезпечувати однорідний та більш ефективний потік завдяки молекулярній масі цільових сполук, які екстрагуються, за рахунок зменшеної маси молекулярної маси.

Нижче наводяться приклади з посиленням на креслення, але це не означає обмеження обсягу винаходи даними прикладами.

#### Приклади

##### Гідроліз

Свіжі пелюстки календули гідролізували. використовуючи кислоту з низькою молекулярною масою, тобто оцтову кислоту або гідрохлоридну кислоту, протягом 30 хвилин для того, розщепити целюлози. Гідролізовані пелюстки промивали водою та потім сушили або сушили на сонці, та перемелювали, щоб отримати порошок.

Модифікування (модифікування естеру лютеїну в природних матеріалах до вільного лютеїну або естерів лютеїну з низькою молекулярною масою)

Один грам гідролізованого порошку календули додавали в 2 мл 95 % етанолу при температурі 75 °C. Потім додавали 2 мл 40 % лужного розчину та витримували при 75 °C протягом 4 годин. Розчин охолоджували до 65 °C та pH регулювали до 7, використовуючи 25 % гідрохлоридну кислоту для того щоб завершити омилення. Потім розчин сушили.

##### Екстракція надкритичним діоксидом вуглецю

На даній стадії застосовували екстрактор для надкритичного діоксиду вуглецю 10 мл (модель SFX-220, ISCO). Омилений порошок календули (1 г) додавали в зазначений екстрактор перед тим, як дають можливість надкритичному діоксиду вуглецю контактувати із зазначеним порошком. Вибрана температура і/або тиск для оптимальної умови становить 40-120 °C, 200-500 бар протягом 4 годин або інша тривалість для того, щоб забезпечити максимальну розчинність вільного лютеїну і/або естеру лютеїну з низькою молекулярною масою в надкритичному діоксиді вуглецю. Оптимальні умови повинні становити 40-70 °C та 300-400 бар.

Система забезпечує рециклінг діоксиду вуглецю або необов'язково виділяє діоксид вуглецю в атмосферу.

Заявник проводив експерименти шляхом вибору наступних умов;

- 1) Температура 40 °C, тиск 150, 200, 250, 300, 350 та 375 бар
- 2) Температура 60 °C, тиск 150, 200, 250, 300 та 325 бар
- 3) Температура 80 °C, тиск 150, 200, 250 та 290 бар
- 4) Температура 100 °C, тиск 150, 200, 250 та 275 бар
- 5) Температура 120 °C, тиск 150, 200 та 255 бар.

Результати неочищених лютеїнових продуктів, одержаних в зазначених вище експериментах, представлені на графіку Фіг. 3. З Фіг. 3 можна побачити, що при температурі 40 °C та тиску 375 бар, неочищений лютеїн становить 98,5 % та при температурі 60 °C та тиску 325 бар, неочищений лютеїн також становить 98,5 %.

На завершення, якщо застосовують низьку температуру, більш високий тиск повинен бути потрібним для того, щоб максимізувати вихід лютеїну. Навпаки, якщо застосовують більш високу температуру, тоді можуть застосовувати більш низький тиск. Однак, занадто висока температура та відсутність агенту, який захищає від окиснення, буде викликати руйнування або розкладання лютеїну на неприйнятному рівні.

При порівнянні способу відповідно до даного винаходу на Фіг. 3 та способу на Фіг. 1, показано, що при температурі 60 °C, спосіб відповідно до даного винаходу вимагає тільки тиск при 325 бар, та вихід неочищеного лютеїну становить аж до 98,5 % тоді як тиск за способом на Фіг. 1 повинен становити 400 бар, та вихід неочищеного лютеїну становить тільки 74,40 %. Може бути зроблений висновок, що спосіб відповідно до даного винаходу є більш ефективним.

Експеримент також продемонстрував на зазначеному вище графіку, що екстракція може бути зроблена при температурі настільки ж низькій як 30 °C.

Відокремлення від залишків органічних речовин та збір неочищеного лютеїну

Після завершення екстракції залишки органічних речовин відокремлювали. Залишковий розчин доводили до температури і/або тиску, які забезпечували мінімальну розчинність екстрагованої речовини в діоксиді вуглецю. Діоксид вуглецю потім випаровували та неочищений екстракт, який був лютеїном, збирали в скляну пробірку, яку обгорнули алюмінієвою фольгою та зберігали в темряві при 4 °C.

Очистка

Очистку вільних ксантофілів, одержаних з вільного естеру ксантофілу та жирної кислоти проводили за допомогою хроматографії з нормальною фазою, використовуючи колонку 35 мм x 240 мм з діоксидом кремнію (100 г діоксиду кремнію). Рухому фазу, їло містить суміш 70:30 гексан:етилацетат закачували в колону зі швидкістю потоку 5-10 мл/хв за допомогою перистальтичного насоса. Зразки збирали кожні 10 хвилин. Зі швидкістю потоку 10 мл/хв, ксантофіли з чистотою 99,5 % будуть отримувати з виходом 46 %. як показано на Фіг 4.

Фіг. 4 демонструє хроматограму неочищеного лютеїну, як представлено на Фіг. 3. яка демонструє, що кількість лютеїну в неочищеному лютеїновому продукті є вищою, ніж та, яку одержували за способом відповідно до Фіг. 1. Фіг. 4. крім того, показала, що неочищений лютеїновий продукт є майже чистим лютеїном (100 %), тоді як неочищений лютеїновий продукт, одержаний за способом відповідно до Фіг. 1 містить багато естеру лютеїну, як показано на хроматограмі на Фіг. 2.

Незважаючи на те, що в даному прикладі як зразок природних матеріалів застосовували календулу, спосіб відповідно до даного винаходу також можуть застосовувати для інших природних матеріалів, що містять лютеїн, тобто капусти, шпинату, мікробних клітин, включаючи бактерії, дріжджі, грибки та мікроводорості і водорості.

Однак, кваліфікований фахівець у даній галузі також може модифікувати даний винахід, та вважається, що зазначена модифікація також знаходиться в межах обсягу даного винаходу.

Кваліфікований фахівець у даній галузі, крім того, розуміє, що принцип способу екстракції відповідно до даного винаходу можуть застосовувати по відношенню до екстракції ксантофілів (з або без лютеїну) з природних матеріалів, що містять ксантофіли, шляхом регулювання умов, що є прийнятними для згаданих природних матеріалів та вибраних ксантофілів.

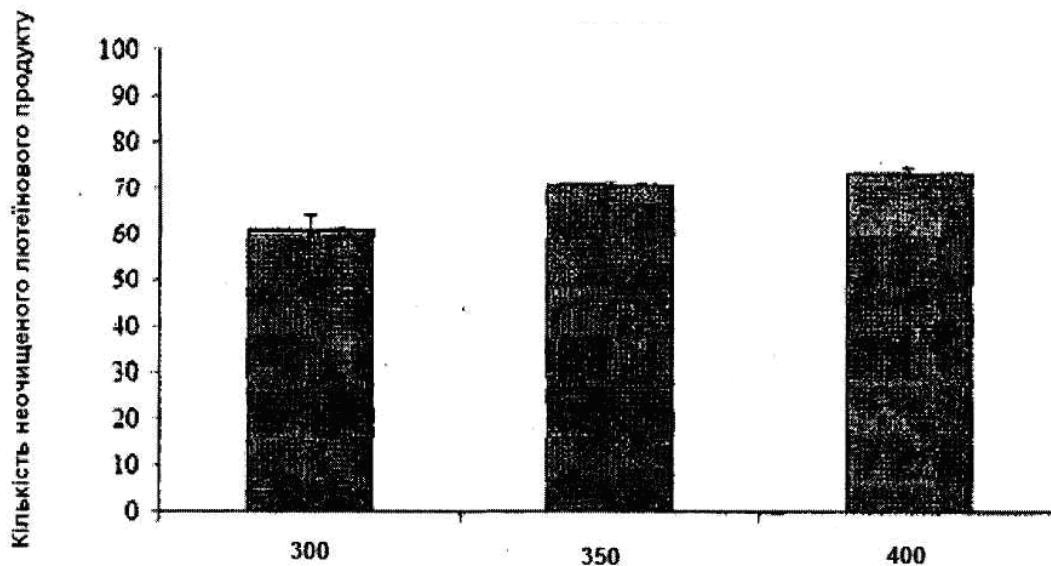
Найкращий варіант

Як описано в докладному описі.

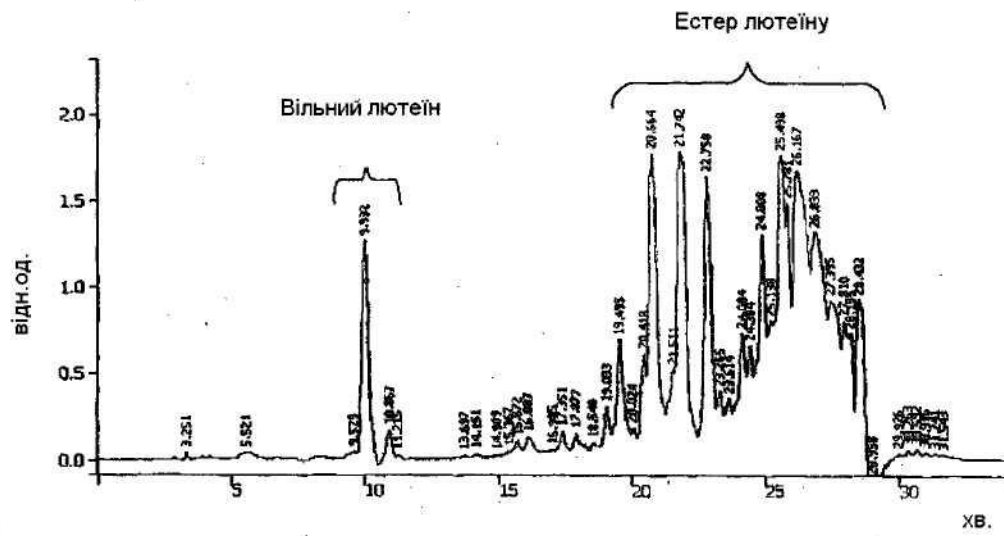
## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб екстракції лютеїну з природних матеріалів, де спосіб включає:

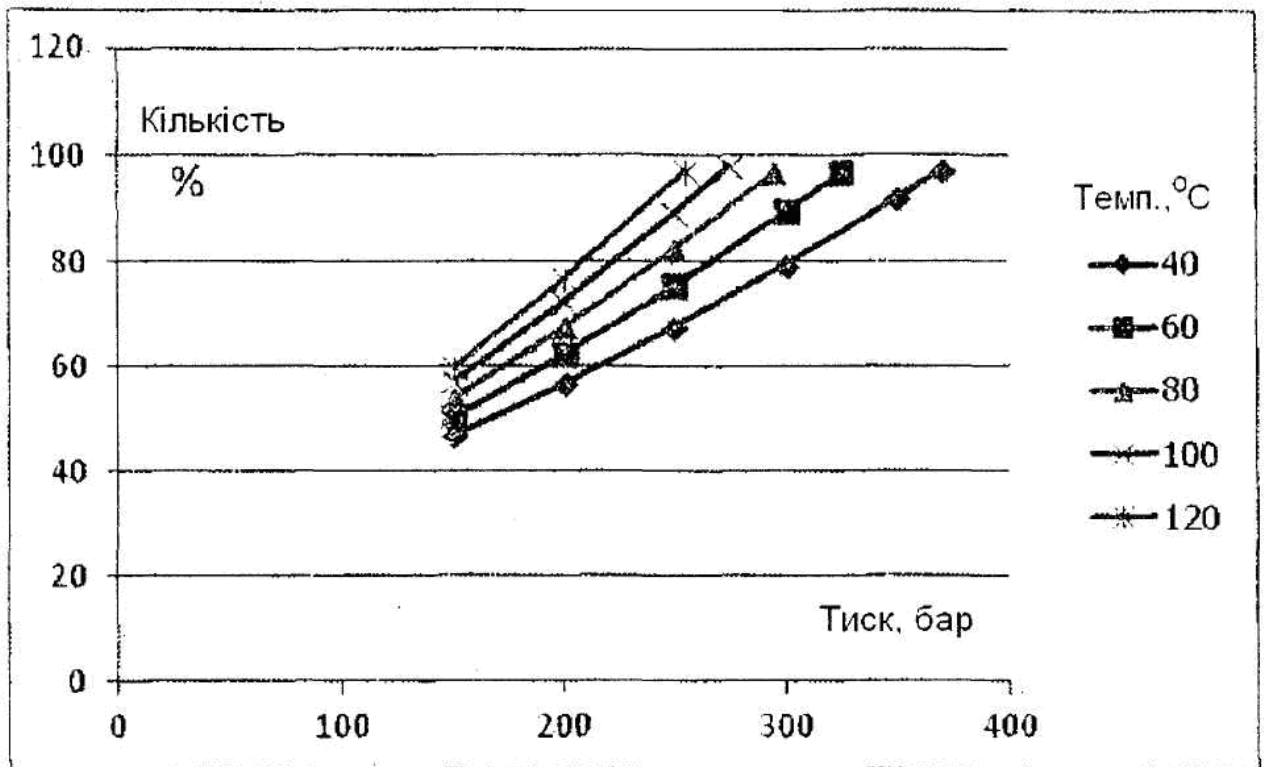
- а) попередню обробку природних матеріалів, які містять природні естери лютеїну, шляхом модифікації природних естерів лютеїну в природних матеріалах до вільного лютеїну;
- б) екстракцію вільного лютеїну шляхом контактування природних матеріалів, попередньо оброблених на стадії (а) з надкритичним середовищем, і шляхом регулювання температури до між 30-100 °С і/або тиску до між 200-450 бар протягом певного періоду часу, щоб забезпечити вільний лютеїн в розчині з надкритичним середовищем;
- с) відокремлення твердих речовин від розчину; і
- д) регулювання температури і/або тиску для зменшення розчинності екстрагованих речовин в розчині, в якому екстраговані речовини включають неочищений лютеїн.
2. Спосіб за п. 1, в якому природні матеріали вибирають з квітів календули, капусти, шпинату, водорості, мікробних клітин або їх комбінації.
3. Спосіб за п. 1 або 2, в якому природні матеріали гідролізують кислотою з низькою молекулярною масою та з наступним видаленням кислоти шляхом промивання водою і/або висушуванням і/або перемелюванням перед тим, як піддати природні матеріали стадії (а).
4. Спосіб за п. 1 або 2, в якому модифікування природного естеру лютеїну на стадії (а) включає омилування.
5. Спосіб за п. 1 або 2, в якому модифікування природного естеру лютеїну на стадії (а) включає переетерифікацію.
6. Спосіб за п. 1, в якому надкритичне середовище вибирають з діоксиду вуглецю, етанолу або їх комбінації.
7. Спосіб за п. 6, в якому надкритичне середовище являє собою діоксид вуглецю.
8. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2, 6 або 7, в якому спосіб додатково включає використання співрозчинників з надкритичним середовищем, де співрозчинники вибирають з нетоксичних природних олій.
9. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 2, 6 або 7, в якому температурні умови на стадії (б) вибирають так, щоб температура була між 40-70 °С, і/або за умови, що тиск на стадії (б) вибирають так, щоб був між 300-400 бар.
10. Спосіб за п. 1, де спосіб додатково включає очищення неочищеного лютеїну, використовуючи хроматографію.
11. Спосіб за п. 2, де мікробні клітини вибирають з бактерій, дріжджів, грибків, мікроводоростей або їх комбінації.
12. Спосіб за п. 8, де нетоксичні природні олії вибирають з пальмової олії, соєвої олії, оливкової олії або їх комбінації.



Фіг. 1 Тиск (бар)

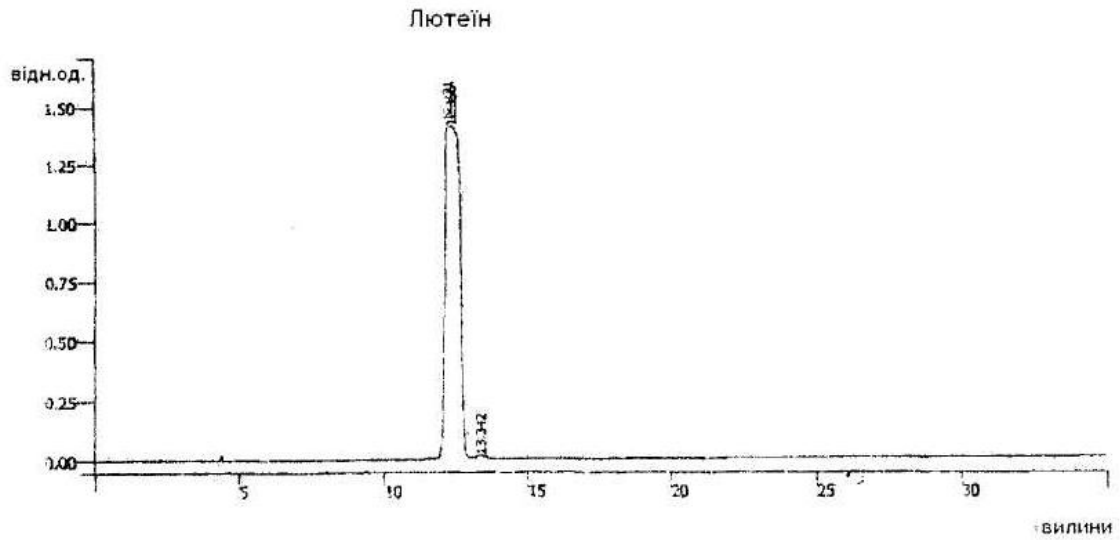


Фіг. 2



Фіг. 3





Фіг. 4

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601