



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2011127572/15, 05.07.2011**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**05.07.2011**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **05.07.2011**(45) Опубликовано: **20.12.2012** Бюл. № 35

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Ferreres, F.; Pereira, D.M.; Gil-Izquierdo, A.; Valentão, P.; Botelho, J.; Mouga, T.; Andrade, P.V. HPLC-PAD-APCI-MS metabolite profiling of cytotoxic carotenoids from the echinoderm *Marthasterias glacialis* (spiny sea-star) // J. Sep. Sci. 2010, 33, 2250-2257. KR 20020000660 A, 05.01.2002. RU 2064476 C1, 27.07.1996. RU 2340216 C1, 10.12.2008.

Адрес для переписки:

**690022, г.Владивосток, пр-кт 100 лет  
Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН, зав.  
патентным отделом Н.И. Стадниченко**

(72) Автор(ы):

**Артюков Александр Алексеевич (RU),  
Ружкова Татьяна Анатольевна (RU),  
Купера Елена Владимировна (RU),  
Маханьков Вячеслав Валентинович (RU),  
Глазунов Валерий Петрович (RU),  
Козловская Эмма Павловна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Тихоокеанский институт  
биоорганической химии им. Г.Б. Елякова  
Дальневосточного отделения Российской  
академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) (RU)**

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КАРОТИНОИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ МОРСКИХ ЗВЕЗД**

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, в частности к способу получения каротиноидного комплекса из морских звезд. Способ получения каротиноидного комплекса из морских звезд включает использование морских звезд вида *Patiria pectinifera* в качестве сырья, которые обезвоживают этиловым спиртом, затем экстрагируют этиловым спиртом с добавлением пищевой кислоты и аскорбиновой кислоты, далее экстракт фильтруют, концентрируют в вакууме, затем полученный

концентрат разбавляют дистиллированной водой и пропускают через колонку с полихромом-1, далее сорбент промывают градиентом этилового спирта, а целевой продукт элюируют этиловым спиртом, затем элюат упаривают в вакууме, полученный концентрат растворяют в этиловом спирте, отстаивают, центрифугируют, затем этанольный раствор упаривают в вакууме при определенных условиях. Вышеописанный способ обеспечивает повышение выхода каротиноидного комплекса. 2 пр., 1 ил.

RU 2 469 732 C1

RU 2 469 732 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
**A61K 35/56** (2006.01)  
**B01D 11/00** (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2011127572/15, 05.07.2011**

(24) Effective date for property rights:  
**05.07.2011**

Priority:

(22) Date of filing: **05.07.2011**

(45) Date of publication: **20.12.2012 Bull. 35**

Mail address:

**690022, g. Vladivostok, pr-kt 100 let  
Vladivostoku, 159, TIBOKh DVO RAN, zav.  
patentnym otdelom N.I. Stadnichenko**

(72) Inventor(s):

**Artjukov Aleksandr Alekseevich (RU),  
Rutskova Tat'jana Anatol'evna (RU),  
Kupera Elena Vladimirovna (RU),  
Makhan'kov Vjacheslav Valentinovich (RU),  
Glazunov Valerij Petrovich (RU),  
Kozlovskaja Ehmma Pavlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe  
uchrezhdenie nauki Tikhookeanskij institut  
bioorganicheskoj khimii im. G.B. Eljakova  
Dal'nevostochnogo otdelenija Rossijskoj akademii  
nauk (TIBOKh DVO RAN) (RU)**

**(54) METHOD OF OBTAINING CAROTINOID COMPLEX FROM STARFISH**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method of obtaining carotinoid complex from starfish includes application of starfish of species *Patiria pectinifera* as raw material, which is dehydrated with ethyl alcohol, then extracted with ethyl alcohol with addition of food acid and ascorbic acid, after that, extract is filtered, concentrated in vacuum, then obtained concentrate is diluted with distilled water and

passed through the column with polychrome-1, then sorbent is washed with ethyl alcohol gradient, and target product is eluted with ethyl alcohol, after that, eluate is evaporated in vacuum, obtained concentrate is distilled in ethyl alcohol, settled, centrifuged, then ethanol solution is evaporated in vacuum, under certain conditions.

EFFECT: increased output of carotinoid complex.  
2 ex

Изобретение относится к фармакологическому производству и может быть использовано для получения каротиноидного комплекса, обогащенного астаксантином.

5 Каротиноиды представляют собой природные жирорастворимые пигменты. Синтез каротиноидов осуществляют только растения, в том числе водоросли, фитопланктон. Животные получают их из своего питательного рациона. Каротиноиды определяют формирование окрасок живых существ от желтой ( $\beta$ -каротин, зеаксантин) до розовато-красной (астаксантин, кантаксантин) и действуют как антиоксиданты. Они защищают 10 клетки и ткани от окислительного стресса, предотвращают коронарные заболевания сердца и сосудов, укрепляют иммунную систему организма, ингибируют развитие некоторых опухолей [F.Ferreres, D.Pereira et al. // J. Sep. Sci, 2010, vol.33, p.2250-2257]. Наиболее известной физиологической ролью каротиноидов является провитаминная активность. [Wataru Miki // Pure & Appl. Chem., 1991, vol. 63, №1, p.141-146].

15 Самым эффективным антиоксидантом среди каротиноидов, улавливающим свободные радикалы и гасящим синглетный кислород, является астаксантин (3,3'-дигидрокси- $\beta,\beta$ -каротен-4,4'-дион) [N. Shimidzu et al. // Fisheries Science 1996, vol.62(1), p.134-137]. Астаксантин обладает солнцезащитными [US 5527533, 18.06.1996; N.Lyons, N.O'Brien // J. of Dermatological Science, 2002, vol.30(1), p.73-84] и 20 противовоспалительными свойствами [S.Lee et al. // Molekules and Cells, 2003, vol.16(1), p.97-105], проявляет иммуномодулирующую активность [H.Jyonouchi et al. // Nutrition and Cancer 1995, vol.23(2), p.171-183].

Природным источником астаксантина являются микроводоросли *Haematococcus*. 25 Ракообразные аккумулируют в своих панцирях астаксантин, полученный в процессе питания. Красно-розовый цвет мяса лососевых рыб является результатом накопления каротиноидов, главным образом астаксантина, усвоенного с пищей.

Продукты и пищевые добавки, содержащие природный астаксантин, имеют 30 высокую питательную ценность и полезны для здоровья [Б. Капели, Д.Р.Цисевски // Природный астаксантин: король каротиноидов // М.: НПО «Источник долголетия», 2008, 160 с.]. Искусственное разведение лососевых рыб определяет высокую потребность в астаксантине, который является важной составной частью их рациона питания. [Dietmar E. Breithaupt // J. Agric. Food. Chem., 2004, vol.52, p.3870-3875].

35 Синтетический астаксантин имеет высокую токсичность и неустойчив во времени. В большинстве случаев источником каротиноидов являются отходы, полученные при переработке промысловых ракообразных. При этом конечный продукт представляет собой концентрат каротиноидов (или их масляный раствор), в состав которого входит 40 астаксантин и его эфиры в комплексе с фосфолипидами. Содержание астаксантина в субстанции в среднем составляет 4-5% [EP 0077583, 27.04.1983].

Известен способ экстракции астаксантина из панцирей моллюсков [EP 0077583, 27.04.1983]. Сущность способа состоит в следующем: панцири моллюсков, 45 содержащие 47% сухого вещества, измельчают, экстрагируют этилацетатом или метилацетатом, фильтруют под давлением и упаривают до постоянного веса в атмосфере азота. Продукт представляет собой полутвердый остаток, состоящий преимущественно из жирной субстанции и свободного астаксантина и его эфиров. Выход целевого продукта в пересчете на астаксантин составляет 0,035-0,039% от веса 50 исходного сырья.

Основными недостатками этого способа являются: низкое содержание астаксантина в полученном продукте, обусловленное, по-видимому, его частичной деструкцией при экстракции на свету без добавления антиоксидантов, а также

пожароопасность способа ввиду использования таких экстрагентов, как этилацетат и метилацетат.

Известен способ комплексной переработки панцирей ракообразных гидробионтов, использование которого позволяет получать концентрат каротиноидов, включая астаксантин, а также концентрат липидов [RU 2179816, 27.02.2002]. Сущность способа состоит в следующем: сырье - панцирь краба камчатского измельчают, экстрагируют ацетоном. Полученный экстракт отделяют фильтрованием. Сырье повторно экстрагируют, экстракты объединяют, фильтруют, затем упаривают. Остаток экстрагируют органическим растворителем (гексан, петролейный эфир). Органическую фазу отделяют и упаривают в вакууме. Продукт представляет собой концентрат каротиноидов, включая астаксантин, в комплексе с фосфолипидами. Выход каротиноидного комплекса составляет 0,60-0,68% или 0,024-0,034% в расчете на астаксантин.

К недостаткам известного способа относится его пожароопасность в связи с использованием ацетона, гексана, петролейного эфира, а также относительно невысокое содержание астаксантина в целевом продукте.

Известен способ экстракции каротиноидных пигментов из отходов переработки креветок [US 3906112, 16.09.1975]. Сущность способа состоит в паровой варке отходов переработки шримса, отжимании и удалении твердых отходов, эмульгировании полученной жидкости в растительном масле (триглицеридном), отделении масляной фракции, содержащей каротиноидные пигменты в форме, подходящей для корма рыб.

К недостаткам этого способа можно отнести то, что целевой продукт, кроме каротиноидов, содержит другие жирорастворимые соединения (липиды, фосфолипиды).

Известен способ экстракции липидов из зоопланктона [RU 2236441, 27.04.2000]. Сущность способа состоит в экстракции криля кетоновым растворителем, фильтровании экстракта, упаривании отфильтрованного раствора, растворении твердого остатка в органическом растворителе (спирте), отделении экстракта фильтрованием или центрифугированием, повторном упаривании экстракта до постоянного веса. Полученный экстракт липидов криля содержит 75 мг/г астаксантина или 7,5% от общего состава липидного комплекса.

К недостаткам известного способа относится низкое содержание астаксантина в целевом продукте, а также пожароопасность вследствие использования кетонового растворителя.

Известен способ получения каротиноидов из морских ежей [M.Tsusima, T.Matsumo // Comp. Biochem. Physiol., 1990, vol.938, №4, p.800-810]. Сущность способа состоит в следующем. Были исследованы 11 видов морских ежей, как в свежесобранном, так и в замороженном виде. Панцири с иглами и гонады отделили от внутренностей, измельчили и промыли водой. Каротиноиды экстрагировали ацетоном, а затем переводили в систему серный эфир - н-гексан (1:1) добавлением воды. Полученный раствор сконцентрирован в атмосфере азота. Каротиноиды отделили препаративной тонкослойной хроматографией на силикагеле в системе ацетон - н-гексан (3:7). Каждая из полученных фракций исследована методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Выделены 25 каротиноидов, основными из которых являются: астаксантин, лютеин,  $\beta$ -каротен, зеаксантин. Общее содержание каротиноидов составляет от 0,01 до 0,03%, в том числе содержание астаксантина в различных видах ежей - от «следовых» количеств до 0,0005%.

К недостаткам известного способа относится то, что способ является

лабораторным, непригодным для промышленного использования, применяются пожароопасные экстрагенты: серный эфир, ацетон, н-гексан. Содержание астаксантина в морских ежах очень незначительное.

5 В то же время дополнительным природным источником каротиноидов, в том числе астаксантина, могут служить морские звезды. Основными каротиноидами этих иглокожих являются катаксантины и стереоизомеры астаксантина [Т.Маока, М. Tsushima, Т. Matsuno // *Comp. Biochem. Physiol.* 1989, vol.93B, №4, p.829-834; F.Ferreres, D.Pereira et al. // *J. Sep.Sci* 2010, vol.33, p.2250-2257].

10 Известен способ получения каротиноидов из морских звезд *Asterina pectinifera* и *Asterias amurensis* [Т.Маока, М. Tsushima, Т. Matsuno // *Comp. Biochem. Physiol.* 1989, vol.93B, №4, p.829-834]. Сущность способа состоит в следующем: каротиноиды экстрагируют из сырья ацетоном, затем переводят в систему эфир - н-гексан (1:1) добавлением воды. Экстракт концентрируют при низком давлении в атмосфере азота при температуре 40°C. Каротиноиды очищают препаративной тонкослойной хроматографией на силикагеле в системе ацетон - н-гексан (3:7) с последующей идентификацией с помощью ВЭЖХ.

15 Выделены 29 известных и 5 новых каротиноидов. Содержание каротиноидов в *A. pectinifera* 0,005%, в *A. amurensis* - 0,00021%, в том числе содержание астаксантина составляет 5% и 4,5% от общего содержания каротиноидов в сырье соответственно. Основными каротиноидами, помимо астаксантина, определены лютеин, зеаксантин и β-каротен.

25 К недостаткам способа относится то, что способ является лабораторным, используются пожароопасные реагенты: ацетон, эфир, н-гексан, содержание и выход каротиноидов из сырья очень низкий.

30 В качестве прототипа выбран способ получения цитотоксических каротиноидов из морских звезд вида *Marthasterias glacialis* [F.Ferreres, D.Pereira et al. // *J.Sep.Sci* 2010, vol.33, p.2250-2257]. Сущность способа состоит в следующем: образцы очищают, промывают морской водой, лиофильно высушивают и измельчают, затем трехкратно экстрагируют метанолом и ацетоном в темноте. Экстракт выпаривают досуха. Выделение и очистку каротиноидов проводят методом ВЭЖХ. Основными идентифицированными каротиноидами были астаксантин, лютеин, зеаксантин. Выход 35 общей каротиноидной фракции составил как в метанольном, так и в ацетоновом экстракте около 1%, при этом содержание астаксантина в метанольном экстракте - 0,01%, в ацетоновом экстракте 0,001% от общего количества сухого сырья.

40 К недостаткам способа относятся: низкий выход каротиноидов, обусловленный, вероятно, низким содержанием их в сырье, использование пожароопасных (ацетон) и токсичных (метанол) реактивов. Способ является лабораторным, к промышленному использованию непригоден.

45 На сублиторали дальневосточных морей широко распространены морские звезды вида *Patiria pectinifera*. В связи с развитием марикультуры эти хищные иглокожие в массовом количестве скапливаются возле морских огородов. Необходимость сбора и уничтожения хищников может одновременно обеспечить достаточную сырьевую базу для производства каротиноидных препаратов.

50 Задачей изобретения является разработка способа получения каротиноидного комплекса, обогащенного астаксантином, из морских звезд *Patiria pectinifera*.

Поставленная задача решена способом получения каротиноидного комплекса из морских звезд, включающим экстракцию с последующей хроматографической очисткой целевого продукта, в котором согласно изобретению в качестве сырья

используют морских звезд *Patiria pectinifera*, которых обезвоживают 96% этиловым спиртом в течение 60-90 мин, затем экстрагируют 96% этиловым спиртом при соотношении сырье - этанол 1:(1:1,2) с добавлением пищевой кислоты в соотношении спирт: кислота 100:(1:1,2) и аскорбиновой кислоты в соотношении спирт: аскорбиновая кислота 1000:(1:1,2) при 15-25°C без доступа воздуха и света в течение 24-48 ч, далее экстракт фильтруют, концентрируют в вакууме при 40-60°C, затем полученный концентрат разбавляют дистиллированной водой до содержания этилового спирта в полученном растворе 20-30% и пропускают через колонку с полихромом-1, уравновешенным 20-30% этиловым спиртом, далее сорбент промывают градиентом этилового спирта 30→50%, а целевой продукт элюируют 60-65% этиловым спиртом, затем элюат упаривают в вакууме при 40-60°C, полученный концентрат растворяют в 96% этиловом спирте, отстаивают 22-24 ч при (-18°C), центрифугируют, затем этанольный раствор упаривают в вакууме при 40-60°C.

Получают комплекс каротиноидов, содержащий астаксантин, лютеин, β-каротин. Выход составляет 0,8-1,00% от веса исходного сырья (4-5% от веса сухого сырья). Содержание астаксантина в полученном каротиноидном комплексе в пределах от 30 до 50%.

Технический результат, обеспечиваемый изобретением, заключается в повышении выхода каротиноидного комплекса в 4-5 раз по сравнению с выходом по способу-прототипу. При этом содержание астаксантина в каротиноидном комплексе из *Patiria pectinifera* на порядок выше содержания его в каротиноидном комплексе, полученном известным способом из морской звезды *Marthasterias glacialis*. Способ не токсичен и не пожароопасен. В предлагаемом способе используются только материалы, разрешенные для пищевых производств: этиловый спирт, пищевая кислота, пищевой антиоксидант. Таким образом, заявляемый способ пригоден для промышленного производства.

Изобретение обеспечивает, с одной стороны, расширение сырьевой базы для получения астаксантина и других каротиноидов, а с другой стороны, решает проблему утилизации такого хищного иглокожего для марикультуры, каким является морская звезда вида *P. pectinifera*.

Сущность метода заключается в следующем: морские звезды *Patiria pectinifera*, свежельвленные или дефростированные, сортируют, отделяют от посторонних примесей и морских гидробионтов других видов, помещают на сетчатый фильтр, промывают морской фильтрованной или пресной технической водой от песка и ила, подсушивают для удаления избыточной поверхностной влаги. Подготовленное сырье загружают в реактор и заливают «под зеркало» 96% этиловым спиртом для удаления внутренней влаги. Обезвоживание осуществляют в течение 60-90 мин, затем спирт сливают и отправляют на регенерацию.

Обезвоженное сырье помещают в полимерные емкости с маркировкой «для пищевых продуктов», эмалированные емкости, или емкости из темного стекла с герметично закрывающейся горловиной. Затем заливают доверху экстрагент, представляющий собой 96% этиловый спирт, содержащий пищевую кислоту, в соотношении спирт - кислота 100: (1:1,2) и аскорбиновую кислоту в качестве пищевого антиоксиданта в соотношении спирт - аскорбиновая кислота 1000:(1:1,2) при 15-25°C, и герметично укупуоривают емкости. Не должно оставаться воздушной прослойки между экстрагентом и крышкой сосуда во избежание окисления каротиноидов.

Экстракцию осуществляют в течение 24-48 ч. После экстракции спиртовой раствор сливают, фильтруют и концентрируют в вакууме при 40-60°C. Полученный

концентрат разбавляют водой до содержания этилового спирта в полученном растворе 20-30%, пропускают через колонку с полихромом-1, уравновешенным 20-30% этиловым спиртом. Колонку с адсорбированными каротиноидами промывают градиентом этилового спирта 30→50%. Каротиноиды элюируют 60-65% этиловым спиртом. Элюат упаривают в вакууме при 40-60°C до полного удаления растворителя.

Дополнительную очистку каротиноидного комплекса от фосфолипидов осуществляют путем растворения концентрата в 96% этиловом спирте, отстаивания раствора в течение 24-48 ч при (-18°C), центрифугирования и последующего упаривания в вакууме при 40-60°C.

Получают темно-красную маслянистую массу, представляющую собой смесь каротиноидов: астаксантина, лютеина, β-каротина с незначительной примесью неидентифицированных каротиноидов. Полученный каротиноидный комплекс хорошо растворим в растительном масле и этиловом спирте.

Выход препарата составляет 0,8-1,00% от веса исходного сырья (4-5% в пересчете на вес сухого сырья). Содержание астаксантина в полученном каротиноидном комплексе в пределах от 30 до 50%.

Предлагаемое техническое решение промышленно применимо, так как использование свежего или мороженого сырья и материалов, разрешенных к использованию в пищевой промышленности (этилового спирта, лимонной или аскорбиновой или фосфорной кислот), позволяет организовать производство каротиноидного комплекса из морских звезд на любом рыбодобывающем и (или) биохимическом производстве.

Для подтверждения чистоты продукта проведен анализ образцов методом ВЭЖХ.

ВЭЖХ проводили на хроматографе "LaChrom" (Merck Hitachi), снабженном УФ детектором L-7400, насосом L-7100, термостатом L-7300, интегратором D-7500 и колонкой Agilent Technologies Zorbax Eclipse XDB-C18, 3.5 μm (75 мм × 4.6 мм) с защитной колонкой Hypersil ODS, 5 μm (4.0 мм × 4.0 мм). Колонку термостатировали при 30°C. Анализ образцов проводили смесью растворителей: А (вода+1% ледяной уксусной кислоты) и В (ацетонитрил + 1% ледяной уксусной кислоты) в соотношении А-В 15:85. Скорость подачи растворителей 1 мл/мин. Детектирование проводили при 475 нм.

На чертеже представлены ВЭЖ хроматограммы экстракта, выделенного из морских звезд *P. rectinifera* (А), и образца астаксантина (В).

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1

Сырье - 10 кг морских звезд *Patiria rectinifera*, замороженных и хранившихся при (-18°C), дефростируют, помещают на сетчатый фильтр, промывают пресной технической или питьевой водой и подсушивают на воздухе или, при необходимости, при помощи вентилятора.

Подготовленное сырье загружают в эмалированный реактор с герметично закрывающейся крышкой или полимерную емкость, разрешенную для контакта с пищевыми продуктами, и заливают 12 л 96% этилового спирта для извлечения внутренней влаги. Через 60 мин спирт сливают и отправляют на регенерацию.

Сырье заливают доверху экстрагентом, представляющим собой смесь 12 л этилового спирта, 1,2 кг пищевой лимонной кислоты и 12 г аскорбиновой кислоты, и герметично укупоривают емкость для предотвращения контакта с кислородом воздуха. Экстракцию проводят методом настаивания при 15°C в течение 24 ч.

После окончания процесса экстракции кислый спиртовый экстракт сливают,

фильтруют и концентрируют в вакууме при 40°C. Полученный концентрат разбавляют водой до содержания этилового спирта в полученном растворе 30% и пропускают через колонку с полихромом-1, уравновешенным 30% этиловым спиртом.

Колонку с адсорбированными каротиноидами промывают градиентом этилового спирта 30→50%. Каротиноиды элюируют 65% этиловым спиртом. Полученный элюат упаривают в вакууме до полного удаления растворителя при 40°C. Затем концентрат растворяют в 1 л 96% этилового спирта и помещают в морозильную камеру (-18°C) на 22 ч.

Выпавший осадок липидов отделяют центрифугированием при (-18°C), 3000 об/мин в течение 30 минут. Спиртовой раствор упаривают в вакууме при 40°C. Получают 80 г темно-красной маслянистой массы, представляющей собой смесь каротиноидов, содержащую 35 г астаксантина.

Выход суммы каротиноидов составляет 0,8% от веса исходного сырья.

#### Пример 2

Свежевыловленных морских звезд вида *Patiria pectinifera* в количестве 10 кг очищают от посторонних примесей, помещают на сетчатый фильтр, промывают фильтрованной морской водой от песка и ила и подсушивают на воздухе или, при необходимости, при помощи вентилятора.

Подготовленное сырье загружают в эмалированный реактор с герметично закрывающейся крышкой или полимерную емкость, разрешенную для контакта с пищевыми продуктами, и заливают 10 л 96% этилового спирта для извлечения внутренней влаги. Через 90 мин спирт сливают и отправляют на регенерацию.

Сырье заливают доверху экстрагентом, представляющим собой смесь 10 л этилового спирта, 1 л пищевой фосфорной кислоты и 10 г аскорбиновой кислоты, и герметично укупоривают емкость для предотвращения контакта с кислородом воздуха. Экстракцию проводят методом настаивания при 25°C в течение 48 ч. После окончания процесса экстракции кислый спиртовой экстракт сливают, фильтруют и концентрируют в вакууме при 60°C.

Полученный концентрат разбавляют дистиллированной водой до содержания этилового спирта в растворе до 20% и пропускают через колонку с полихромом-1, уравновешенным 20% этиловым спиртом. Колонку с адсорбированными каротиноидами промывают градиентом этилового спирта 30→55%. Каротиноиды элюируют 60% этиловым спиртом. Полученный элюат упаривают в вакууме до полного удаления растворителя при 60°C. Затем концентрат растворяют в 1 л 96% этилового спирта и помещают в морозильную камеру (-18°C) на 24 часа.

Выпавший осадок липидов отделяют центрифугированием при (-18°C), 3000 об/мин в течение 30 минут. Спиртовой раствор упаривают в вакууме при 60°C. Получают 100 г темно-красной маслянистой массы, представляющей собой смесь каротиноидов, содержащую 48 г астаксантина.

Выход суммы каротиноидов составляет 1% от веса исходного сырья.

#### Формула изобретения

Способ получения каротиноидного комплекса из морских звезд путем экстракции с последующей хроматографической очисткой целевого продукта, отличающийся тем, что в качестве сырья используют морских звезд вида *Patiria pectinifera*, которых обезвоживают 96%-ным этиловым спиртом в течение 60-90 мин, затем экстрагируют 96%-ным этиловым спиртом при соотношении сырье:этанол 1:(1-1,2) с добавлением пищевой кислоты в соотношении спирт:кислота 100:(1-1,2) и



аскорбиновой кислоты в соотношении спирт:аскорбиновая кислота 1000:(1-1,2) при 15-25°C без доступа воздуха и света в течение 24-48 ч, далее экстракт фильтруют, концентрируют в вакууме при 40-60°C, затем полученный концентрат разбавляют дистиллированной водой до содержания этилового спирта в полученном растворе 20-30% и пропускают через колонку с полихромом-1, уравновешенным 20-30% этиловым спиртом, далее сорбент промывают градиентом этилового спирта с 30 до 50%, а целевой продукт элюируют 60-65% этиловым спиртом, затем элюат упаривают в вакууме при 40-60°C, полученный концентрат растворяют в 96%-ном этиловом спирте, отстаивают 22-24 ч при (-18°C), центрифугируют, затем этанольный раствор упаривают в вакууме при 40-60°C.

15

20

25

30

35

40

45

50