

Invenția se referă la biotehnologie, în special la un procedeu de obținere a pigmentului carotenoidic mixoxantofila din biomasa de *Spirulina platensis* pentru utilizare în industria alimentară sau în medicină.

Mixoxantofila este un carotenoid glicozidic. Interesul sporit față de carotenoizi, inclusiv față de mixoxantofilă, este legat de capacitatea lor antioxidantă, ceea ce pune în fața cercetătorilor sarcina de a elabora tehnologii de separare și purificare a carotenoizilor pentru producerea lor în cantități industriale.

Este cunoscut un procedeu de obținere a mixoxantofilei din biomasa cianobacteriei *Synechocystis* PCC 680, care include următoarele etape: separarea în faza staționară (în a 4-a zi de cultivare) a biomasei de lichidul de cultură prin centrifugare, obținerea extractului de mixoxantofilă prin adăugarea acetonei de 50% într-un mojar cu bile de sticlă, centrifugarea și eliminarea precipitatului. În supernatantul portocaliu se conțin 95% din conținutul total de mixoxantofilă și doar cantități mici de alți pigmenți. Purificarea ulterioară se efectuează supunând extractul acetonic obținut la extracție ulterioară în faza lichid-lichid în conformitate cu următoarele proporții (volumul total de aproximativ 1 litru): extract de mixoxantofilă - 1 parte, 1 parte acetonă, 1 parte de hexan + 1 parte de apă, se toarnă treptat una după alta într-o pâlnie și se agită, după care se adaugă 10 g NaCl. La etapa ulterioară de separare, mixoxantofila se află în faza hexanică. Extractul hexanic este evaporat într-un evaporator rotativ la 25°C în întuneric, în decurs de 30 min. Precipitatul de mixoxantofilă se usucă. Purificarea ulterioară se efectuează prin cromatografie preparativă cu faze inverse pe coloană de Biocard (250 x 25 mm) la presiunea de 10...15 bar. Pentru separarea și eluția pigmentului de mixoxantofilă se utilizează soluțiile A și B cu concentrația inițială în raport de 80:20 și cea finală de 0:100. Soluția A: amestec de acetonă-metanol cu 10% soluție tampon fosfat, soluția B - etilacetat. Detecția pigmentilor se efectuează la 405 nm. Se recomandă utilizarea mixoxantofilei sau echinenonei pentru tratamentul profilactic și/sau terapeutic în condiții determinate sau favorizate de procese oxidative la oameni și animale [1].

Dezavantajele acestui procedeu constau în utilizarea unor solvenți toxici ca acetona și metanolul, precum și purificarea suplimentară pe coloană de Biocard, ceea ce majorează costul și diminuează randamentul.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unui procedeu de obținere a mixoxantofilei din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*, care asigură excluderea unor astfel de solvenți toxici ca acetona și metanolul, majorarea randamentului și obținerea mixoxantofilei în formă de cristale cu o puritate înaltă.

Esența invenției constă în faptul că se efectuează extragerea repetată a mixoxantofilei din biomasa cu soluție hidroetanolică de 70...96% cu separarea biomasei prin centrifugare și unificarea extractelor obținute, la care se adaugă hidroxid de kaliu de 40%, în raport de 3:1 față de cantitatea de biomasa supusă extracției, se menține 4...6 ore și se adaugă hexan, după care prin decantare se separă fracția etanolică cu conținut de mixoxantofilă, care se diluează cu apă până la concentrația alcoolului etilic de 45...50%, se centrifughează la 6000 rot/min, iar cristalele obținute se spală cu soluție de etanol de 45...50% și se usucă.

Rezultatul tehnic obținut constă în utilizarea alcoolului etilic în calitate de extragent al mixoxantofilei și excluderea unor astfel de solvenți volatili și toxici ca acetona și metanolul, ceea ce facilitează etapele ulterioare de purificare (saponificarea și precipitarea mixoxantofilei prin diminuarea concentrației alcoolului la valorile de 45...50%) și asigură obținerea mixoxantofilei sub formă de cristale, ce determină o puritate înaltă (99,9%) și un randament de 99,0%.

Rezultatul tehnic obținut se datorează insolubilității mixoxantofilei în soluții alcoolice de 45...50%, ceea ce reprezintă o noutate și permite separarea ei de alți pigmenți, care rămân în soluție.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

5 g de biomasa de spirulină se suspendă în 25 ml de apă purificată și 175 ml de alcool etilic de 80% și se agită în decurs de 60 min. Se centrifughează la 6000 rot/min pentru a separa extractul de restul de biomasa, la care se adaugă 100 ml alcool etilic de 70% și se agită timp de 30 min pentru extracția repetată a pigmentilor. La extractele reunite se adaugă 15 ml KOH de 40%, se lasă pentru 4...6 ore pentru saponificare, apoi se adaugă 100 ml hexan pentru înlăturarea beta-carotenului și a fracției lipidice. În pâlnia de decantare se separă fracția de clorofilă saponificată, apoi fracția etanolică ce conține mixoxantofilă se diluează cu apă până la atingerea concentrației alcoolului de 50%, după care se supune centrifugării la 6000 rot/min. Cristalele obținute se spală cu soluție de C₂H₅OH de 50% și se usucă.

Exemplul 2

10 g de biomasa de spirulină se suspendă în 75 ml de apă purificată și 200 ml de alcool etilic de 96% și se agită în decurs de 60 min. Se centrifughează la 6000 rot/min și se separă extractul de restul de biomasa. La precipitatul obținut se adaugă 140 ml alcool etilic de 96% și se agită timp de 30 min pentru extracția repetată a pigmentilor. La extractele reunite se adaugă 30 ml de KOH de 40%, se lasă pe 4...6 ore pentru saponificare, apoi se mai adaugă 100 ml hexan pentru înlăturarea carotenoizilor și a fracției lipidice și se agită. În pâlnia de decantare se separă fracția de clorofilă saponificată, apoi fracția etanolică ce conține mixoxantofilă se diluează cu apă până la atingerea concentrației alcoolului de 45%, după care se supune centrifugării la 6000 rot/min. Cristalele obținute se spală cu soluție de C₂H₅OH de 45% și se usucă.