

**УКРАЇНА**

(19) **UA** (11) **120689** (13) **C2**
(51) МПК (2019.01)
C12N 11/00
C12N 11/10 (2006.01)
C07K 1/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2018 11915	(72) Винахідник(и): Черно Наталія Кирилівна (UA), Озоліна Софія Олександрівна (UA), Битка Тетяна Вікторівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 03.12.2018	
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.01.2020	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.04.2019, Бюл.№ 8	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.01.2020, Бюл.№ 1	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 9606935 A2, 07.03.1996 GB 1298980 A, 06.12.1972 BG 100548 A, 31.01.1997

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСУ ПАПАЇНУ З АРАБІНОКСИЛАНОМ**(57) Реферат:**

Спосіб стосується харчової промисловості, зокрема до способу одержання комплексу папаїну з арабіноксиланом, який має протеолітичну активність. Заявлено спосіб, в якому готують водний розчин, що містить 0,4-4,0 мас. % папаїну, і водний розчин, що містить 0,1-0,75 мас. % арабіноксилану, приготовлені водні розчини змішують при співвідношенні (1-2):(1-2) відповідно, суміш водних розчинів витримують протягом 15-30 хв за температури 20-30 °С, після чого висушують при 30-50 °С до залишкової вологості не більше 8 %. Технічний результат: підвищення протеолітичної активності ферменту у порівнянні з активністю вільного папаїну, підвищення стійкості до зміни рН середовища та температури та пролонгація активності дії ферменту.

UA 120689 C2

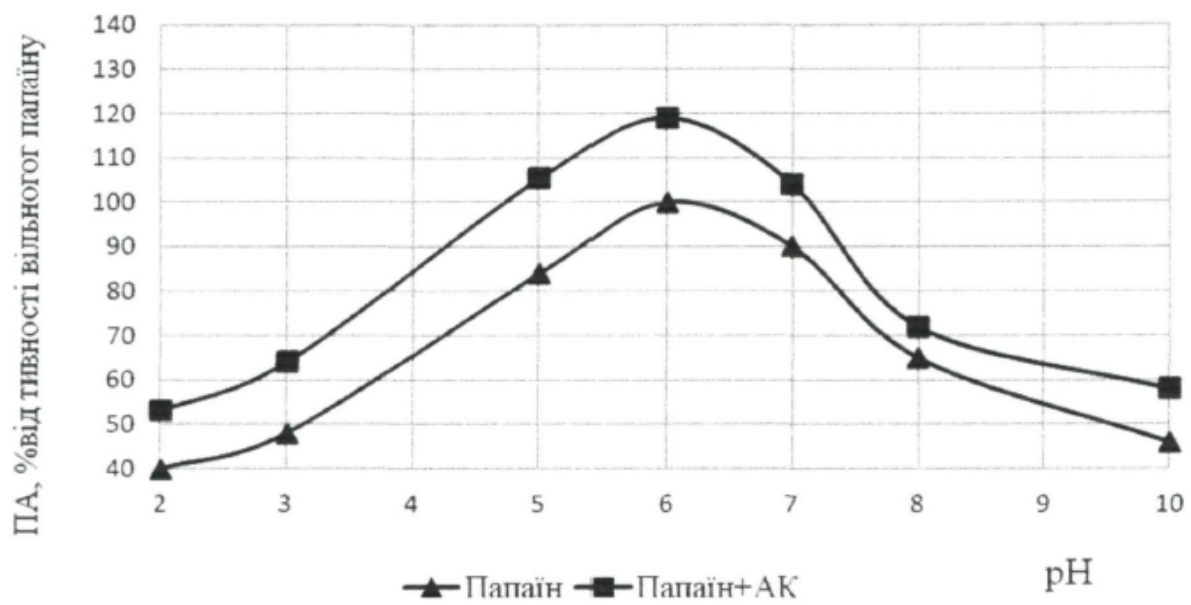


Fig. 1

Винахід стосується харчової промисловості, зокрема до способу одержання комплексу папаїну з арабіноксиланом, який має протеолітичну активність.

З науково-технічної і патентної літератури заявнику невідомо комплекс папаїну з арабіноксиланом, а також спосіб його одержання.

В основу винаходу поставлено задачу створити спосіб одержання раніше невідомого комплексу папаїну з арабіноксиланом, який має протеолітичну активність.

Поставлена задача вирішена способом одержання комплексу папаїну з арабіноксиланом, відповідно до якого готують водний розчин, що містить 0,4-4,0 мас. % папаїну, і водний розчин, що містить 0,1-0,75 мас. % арабіноксилану, приготовлені водні розчини змішують при співвідношенні (1-2):(1-2) відповідно, суміш водних розчинів витримують протягом 15-30 хв за температури 20-30 °С, після чого висушують при 30-50 °С до залишкової вологості не більше 8 %.

Як в Україні, так і за її межами такий комплекс з протеолітичною активністю та спосіб його одержання не описано.

Комплекс протеолітичного ферменту папаїну з арабіноксиланом одержували, варіюючи масову частку папаїну в розчині від 0,4 % до 4,0 %, арабіноксилану - від 0,1 % до 0,75 % при співвідношенні об'ємів водних розчинів ферменту та полісахариду (1-2):(1-2), за температури 20-30 °С. Отримані зразки висушували. Для визначення тривалості процесу комплексоутворення контролювали активність ферменту в складі комплексу через кожні 10 хвилин протягом години.

Арабіноксилан отримували екстрагуванням жмиху кукурудзяних зародків - побічного продукту виробництва олії.

Приклад 1

Приготували водний розчин, що містить 4,0 мас. % папаїну, та водний розчин, що містить 0,25 мас. % арабіноксилану, шляхом розчинення наважок у дистильованій воді при 20 °С і перемішуванні. До розчину папаїну 100 см³ додавали при перемішуванні 100 см³ розчину арабіноксилану. Суміш витримували при температурі 20 °С протягом 20 хвилин. Комплекс висушували при температурі 30 °С, використовуючи конвекційне сушіння. Отримано 4,25 г. В отриманому комплексі співвідношення папаїн:арабіноксилан 4:1 (на суху речовину). При всіх значеннях рН у досліджуваному інтервалі спостерігається підвищення активності ферменту, її максимальне значення сягає 119 % від активності вільного ферменту. рН оптимум вільного папаїну знаходиться близько 6 од. В результаті комплексоутворення спостерігається розширення рН оптимуму дії ферменту. Оптимальне значення рН для папаїну в складі комплексу знаходиться в межах 6-8 (фіг. 1 - Залежність протеолітичної активності папаїну від рН середовища). На фіг. 1, 2, 3, 4 протеолітична активність позначена як ПА.

Як видно (фіг. 2 - Залежність протеолітичної активності папаїну від температури), комплексоутворення дещо підвищує стабільність ферменту.

Термостабільність ферменту в отриманому продукті визначали при фізіологічних значеннях температури 37 °С (фіг. 3 - Термостабільність папаїну при 37 °С) та температурі 65 °С. (фіг. 4 - Термостабільність папаїну при 65 °С).

В складі комплексу при витримуванні за температури 37 °С активність ферменту зберігається високою протягом 90 хв. Для вільного папаїну спостерігається достатньо різке зниження активності. Комплексоутворення пролонгує активність ферменту у часі.

Папаїн при температурі 65 °С починає суттєво втрачати ферментативну активність вже через 30 хв і далі цей процес інтенсифікується. У складі комплексу активність протягом 60 хв, є сталою, далі вона знижується, але значно перевищує активність вільного ферменту.

Підтвердженням утворення комплексу папаїну з арабіноксиланом є результати дослідження отриманого продукту методом ІЧ-спектроскопії, термогравіметричним аналізом.

Інтенсивна широка смуга з максимумом поглинання 3400 см⁻¹, зміщена в низькочастотну область, в порівнянні з частотою вільних ОН-груп, що свідчить про участь гідроксилів в системі водневих зв'язків, а відсутність смуги поглинання при 3650 см⁻¹ вказує, що практично всі гідроксильні групи включені в водневий зв'язок [див. Черно Н.К., Крусір Г.В., Коваленко О.В. Біокоректори процесів травлення: монографія. Одеса: Астропринт, 2010. 96 а], (фіг. 5-ІЧ-спектр комплексу папаїну з арабіноксиланом).

Отже, інтерпретація спектрів поглинання комплексу та його складових в інфрачервоній області показала, що взаємодія папаїну з арабіноксиланом супроводжується утворенням водневих зв'язків між ними.

Термогравіметричний аналіз полягає у зміні залежності маси зразка від температури середовища, якій він піддається.

Термічним аналізом були досліджені такі зразки: комплекс папаїну з арабіноксиланом, суміш папаїну з арабіноксиланом.

Термічну стабільність досліджуваних зразків оцінювали за тепловими ефектами.

При аналізі комплексу папаїну з арабіноксиланом при температурі 152 °C спостерігається слабо виражена ендотермічна реакція. В інтервалі температур 162-226 °C відбуваються два процеси, які частково накладаються один на інший. Перший закінчується за температури 171 °C. Максимальна швидкість розщеплення другого відбувається за температури 194 °C. Загальна втрата маси склала 31 %. Щодо аналізу суміші папаїну з арабіноксиланом, вона була стабільною до температури 100 °C. В інтервалі температур 104-201 °C також відбувалися два процеси, що частково перекривалися. Максимальна швидкість першого була за температури 144 °C, другого - 176 °C.

Загальна втрата маси 34 %. Підвищення температури, при якій відбувалося розщеплення комплексу папаїну з арабіноксиланом в порівнянні з сумішшю папаїну з арабіноксиланом, свідчить про наявність зв'язків між папаїном і арабіноксиланом в складі комплексу.

Отримані дані можна розглядати як підтвердження утворення комплексу між папаїном і арабіноксиланом.

Приклади 2-15 здійснювали аналогічно тому, як наведено в прикладі 1, але при різних умовах. Дані наведені в таблиці (табл. - Умови одержання комплексу папаїну з арабіноксиланом)

Як видно з даних, наведених в таблиці, для отримання комплексу з найвищою протеолітичною активністю комплексоутворення рекомендується проводити суміщенням розчинів папаїну з концентрацією 4,0 % та арабіноксилану з концентрацією 0,25 % при співвідношенні об'ємів водних розчинів 1:1 протягом 20 хв при температурі 20 °C. Сушіння проводити за температури 30 °C. При зміні вказаних параметрів спостерігається зниження протеолітичної активності ферменту.

Таблиця

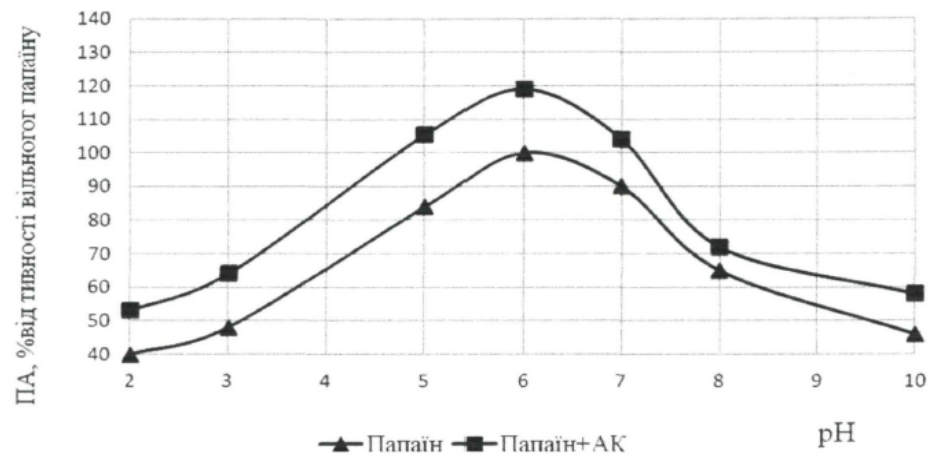
№ прикладів	Приготування водних розчинів (мас. %)		Співвідношення водних розчинів		Витримування суміші водних розчинів		Сушіння, °C	Активність папаїну в складі комплексу (у % від активності вільного папаїну)
	Папаїн	Арабіноксилан	Папаїн	Арабіноксилан	Тривалість, хв	Температура, °C		
1	4,0	0,25	100	100	20	20	30	119
2	2,0	0,75	100	200	18	20	30	105
3	0,4	0,1	200	100	20	20	60	84
4	0,2	0,4	100	100	17	27	35	78
5	6,0	0,5	100	100	16	30	50	76
6	0,4	0,08	100	100	18	35	55	27
7	1,6	1,0	100	100	19	26	35	74
8	4,0	0,25	100	100	15	22	40	98
9	1,2	0,6	300	100	30	31	58	68
10	4,0	0,3	100	100	12	32	54	72
11	0,8	0,5	200	100	27	20	58	34
12	3,6	0,75	100	200	15	15	40	55
13	2,4	0,2	100	200	20	40	60	50
14	3,2	0,1	100	100	17	35	20	62
15	0,4	0,6	200	100	18	29	60	30

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

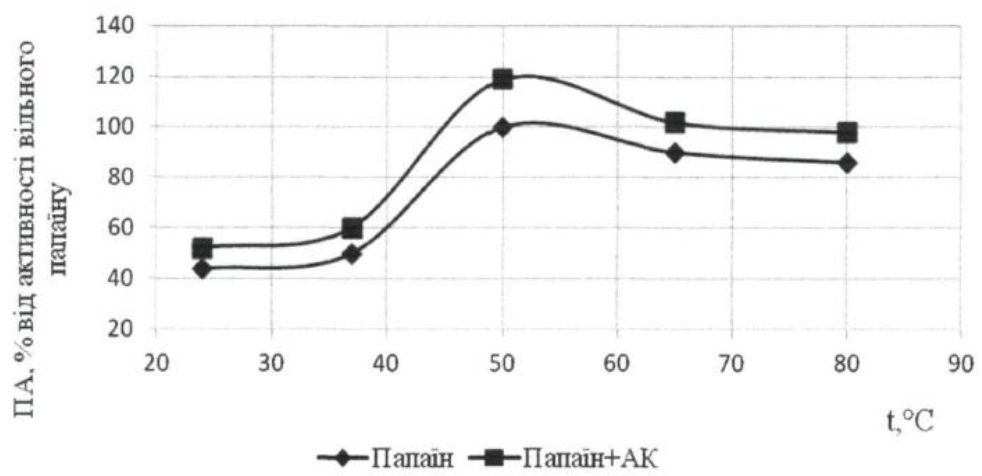
30

Спосіб одержання комплексу папаїну з арабіноксиланом, в якому готують водний розчин, що містить 0,4-4,0 мас. % папаїну, і водний розчин, що містить 0,1-0,75 мас. % арабіноксилану, приготовлені водні розчини змішують при співвідношенні (1-2):(1-2), відповідно, суміш водних розчинів витримують протягом 15-30 хв за температури 20-30 °C, після чого висушують при 30-50 °C до залишкової вологості не більше 8 %.

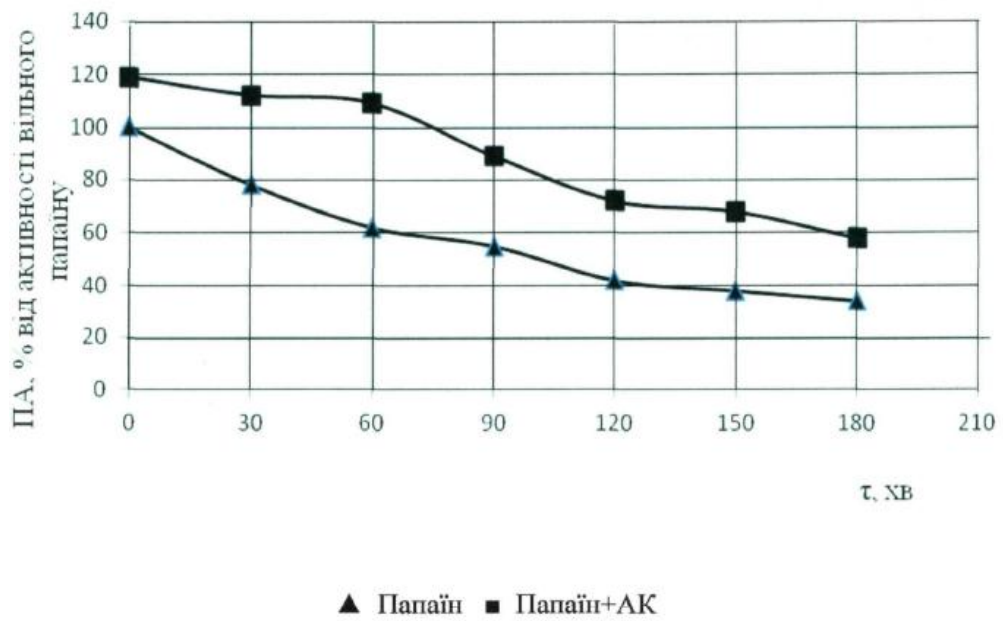
35



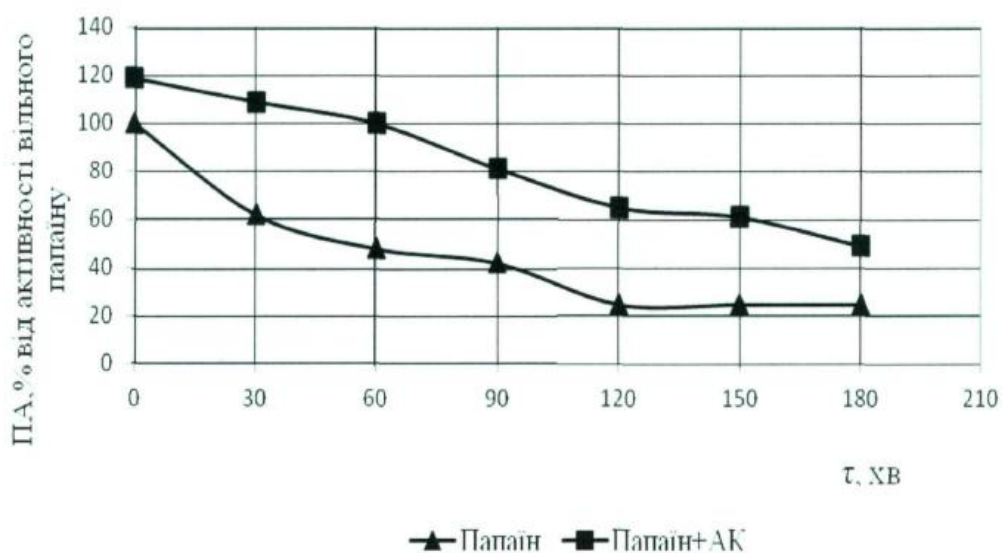
Фіг. 1



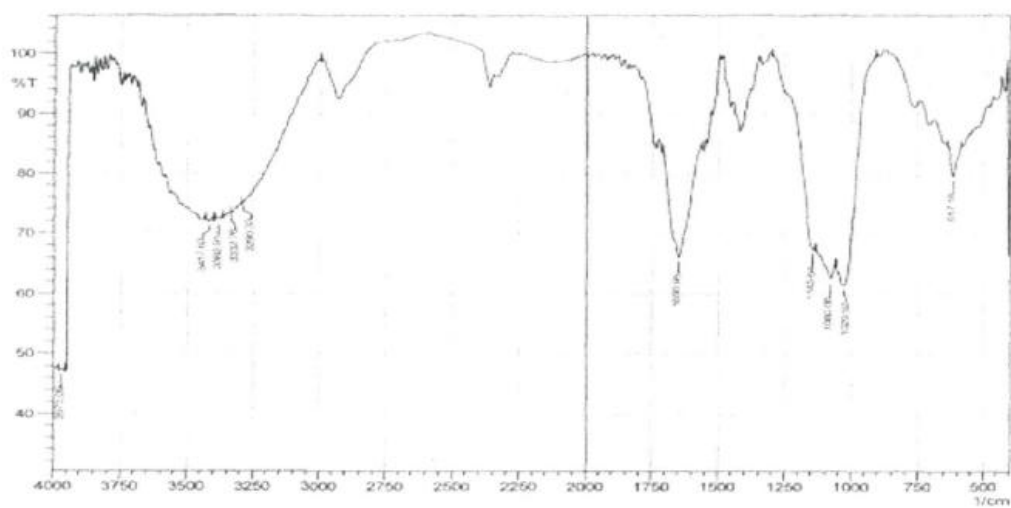
Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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