



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **73804** (13) **U**
(51) МПК
A23L 1/30 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 03161	(72) Винахідник(и): Черно Наталія Кирилівна (UA), Кудашев Сергій Миколайович (UA), Шапкіна Кристина Ігорівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 19.03.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2012	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2012, Бюл.№ 19	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ ДОБАВКИ

(57) Реферат:

Спосіб одержання біологічно активної добавки включає обробку пресованих хлібопекарських дріжджів хімічним реагентом, відокремлення цільового продукту і наступне його сушіння. Пресовані хлібопекарські дріжджі обробляють розчином H_2O_2 . Потім осад відокремлюють і промивають водою, а відокремлення цільового продукту проводять в два етапи, нагрівають реакційну суміш та відокремлюють від супернатанту, промивають гарячою водою, знову відокремлюють від супернатанту і висушують спочатку етиловим спиртом, а після - ефіром.

UA 73804 U

Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до технології одержання біологічно активної добавки (БАД) з клітинних стінок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*, який призначений для підвищення імунного стану здоров'я людини.

Відомий спосіб одержання біологічно активної добавки з клітинних стінок дріжджів [див. 5 Басс-Шадхан Х.Ф. Зимозан: методы получения. Биохимическая характеристика и перспективы применения. Рига: "Зинатне" 1970; С. 32-44.], який передбачає оброблення 1 кг пресованих хлібопекарських дріжджів 4 дм³ розчину 0,5 М Na₂HPO₄ та кип'ятіння протягом трьох годин, охолодження суспензії до 37 °С. Потім рН середовища суміші доводять до 7,7-8,0 та 10 проводять ферментативний гідроліз протягом шістнадцяти діб з додаванням на першу, третю, шосту та десятю добу 0,5 г трипсину або панкреатину (у перерахунок на активність трипсину), а також 5 см³ толуолу на першу, третю, сьому, одинадцятую та п'ятнадцятую добу. Після гідролізу суміш центрифугують, отриманий осад суспендують в 4 дм³ води при кімнатній температурі протягом 1 години, отриману суміш центрифугують та проводять процес сушіння. Отриманий 15 препарат являє собою нерозчинний у воді дрібний порошок світло-сірого кольору. Вихід препарату складає 1-2 % від маси свіжих дріжджів.

Даний спосіб вибрано за прототип. Прототип і спосіб, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- обробка пресованих хлібопекарських дріжджів хімічним реагентом;
- відокремлення цільового продукту;
- 20 - сушіння цільового продукту.

Але отриманий таким чином препарат має низький вихід цільового продукту та великі затрати на проведення ферментативного гідролізу.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити ефективний спосіб одержання біологічно активної добавки з клітинних стінок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*, в якому шляхом попередньої руйнації клітинної оболонки дріжджів та розроблення 25 оптимальних умов видалення білка забезпечити отримання препарату з високим ступенем чистоти економічно вигідним способом.

Поставлену задачу вирішують в способі одержання біологічно активної добавки, що передбачає оброблення пресованих хлібопекарських дріжджів хімічним реагентом, відокремлення цільового продукту і наступне його сушіння. Згідно з корисною моделлю хлібопекарські дріжджі обробляють 3 %-им розчином H₂O₂ при гідромодулі 1:(2-3) протягом 1-24 30 годин, після чого осад відокремлюють і промивають водою, а відокремлення проводять в два етапи, причому на першому етапі видаляють білок шляхом оброблення осаду 3-6 %-им розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-5) при 45-65 °С протягом 0,5-3,0 годин, а на другому етапі 35 видаляють глікоген шляхом оброблення осаду 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:(1-3) і нагріванні реакційної суміші до температури не більш 75 °С, осад відокремлюють від супернатанту, промивають гарячою водою, знову відокремлюють від супернатанту і висушують спочатку етиловим спиртом, а після - ефіром.

Режими руйнування клітинної оболонки дріжджів, видалення білка та глікогену підбрано 40 експериментально.

Отриманий препарат являє собою біополімерний комплекс полісахаридної природи, виділений з клітинних стінок дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*. Хімічний склад комплексу представлено у таблиці 1.

У результаті проведення хроматографічного аналізу продуктів кислотного гідролізу 45 комплексу було встановлено наявність в ній глюкози і манози в співвідношенні 7:3 відповідно. Це відповідає вкладу β-глюкановій та манановій складовій в інтегральний полісахаридний комплекс.

Таким чином, препарат, одержаний таким способом, дає можливість отримати 50 полісахаридний комплекс не тільки з високим виходом цільового продукту, але і з високим ступенем очищення, що є не менш значущим для отримання БАД, в основі якої лежить β-глюкан, який призначений для підвищення імунного стану здоров'я людини [Беседнова Н.Н., Иванушко Л.А., Звягинцева Т.Н. и др. (2000) Иммунотропные свойства 1,3/1,6-β-D-глюканов. Антибиотики и химиотерапия, 2:37-44.]. Співвідношення полісахаридів коливаються в залежності від режимів культивування хлібопекарських дріжджів.

Спосіб одержання біологічно активної добавки здійснюють у наступному порядку. Пресовані 55 хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляють перекисом водню масовою долею 3% протягом 1-24 годин при гідромодулі 1:(2-3) з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та 60 знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин при кімнатній температурі для відділення

осаду від супернатанту. Осад обробляють розчином натрію гідроксидом з масовою долею 3-6 % протягом 0,5-3 годин при гідромодулі 1:(2-5) з періодичним перемішуванням при температурі 45-65 °С для максимального видалення білка, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Осад обробляють 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:(1-3) нагрівають до 75 °С для видалення глікогену, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою, нагрітою до 75 °С, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Осад висушують спочатку етиловим спиртом, а після - ефіром. Отриманий препарат уявляє собою дрібний порошок світлого кольору. Вихід препарату складає 2,7-4,6 % від маси свіжих дріжджів.

Приклад № 1

При одержанні заявленої БАД 100 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляють 300 см³ розчином перекису водню масовою долею 3 % протягом 3 годин з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Отриманий осад заливають 200 см³ розчином гідроксиду натрію масовою долею 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при температурі 65 °С, потім суспензію центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Одержаний осад змішують з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:1 та нагрівають до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою, нагрітою до 75 °С, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушують поступово етанолом, а потім ефіром та розтирають у ступці. Отриманий препарат являє собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 2

При одержанні заявленої БАД 100 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляють 500 см³ розчином перекису водню масовою долею 3 % протягом 24 годин з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Отриманий осад заливають 200 см³ розчином гідроксиду натрію масовою долею 6 % протягом 30 хвилин з періодичним перемішуванням при температурі 45 °С, потім суспензію центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Одержаний осад змішують з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:3 та нагрівають до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою, нагрітою до 75 °С, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушують поступово етанолом, а потім ефіром та розтирають у ступці. Отриманий препарат являє собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 3

При одержанні заявленої БАД 100 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляють 250 см³ розчином перекису водню масовою долею 3 % протягом 24 годин з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Отриманий осад заливають 500 см³ розчином гідроксиду натрію масовою долею 3 % протягом 30 хвилин з періодичним перемішуванням при температурі 50 °С, потім суспензію центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Одержаний осад змішують з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:2 та нагрівають до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою, нагрітою до 75 °С, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушують поступово етанолом, а потім ефіром та розтирають у ступці. Отриманий препарат являє собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 4

При одержанні заявленої БАД 100 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляють 200 см³ розчином перекису водню масовою долею 3 %

протягом 2 годин з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Отриманий осад заливають 250 см³ розчином гідроксиду натрію масовою долею 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при температурі 65 °С, потім суспензію центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Одержаний осад змішують з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:1 та нагрівають до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою, нагрітою до 75 °С, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушують поступово етанолом, а потім ефіром та розтирають у ступці. Отриманий препарат являє собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 5

При одержанні заявленої БАД 100 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляють 400 см³ розчином перекис водню масовою долею 3 % протягом 6 годин з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Отриманий осад заливають 500 см³ розчином гідроксиду натрію масовою долею 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при температурі 55 °С, потім суспензію центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою та знову центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин. Одержаний осад змішують з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:3 та нагрівають до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивають водою, нагрітою до 75 °С, центрифугують при 8000 об/год. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушують поступово етанолом, а потім ефіром та розтирають у ступці. Отриманий препарат являє собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Таблиця 1

Хімічний склад препарату

Показники	Вміст, %
Легкогідролізовані полісахариди (ЛГП)	0,5-3,0
Важкогідролізовані полісахариди (ВГП)	76,7-89,9
Білок	4,7-19,7
Ліпіди	0,8-1,6
Глікоген	відсутній

Таблиця 2

Характеристика і вихід цільового продукту, отриманого за прикладами № 1-5

№ прикладу	Вихід комплексу, % від маси свіжих дріжджів	Вміст ВГП, %	Вміст білка, %
1	4,1	76,7	15,9
2	2,7	84,2	7,0
3	3,1	89,3	4,7
4	3,7	79,8	13,4
5	3,5	82,6	9,4

30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання біологічно активної добавки, що включає обробку пресованих хлібопекарських дріжджів хімічним реагентом, відокремлення цільового продукту і наступне його сушіння, який **відрізняється** тим, що пресовані хлібопекарські дріжджі обробляють 3 %-им розчином H₂O₂ при гідромодулі 1:(2-3) протягом 1-24 годин, після чого осад відокремлюють і промивають водою, а відокремлення цільового продукту проводять в два етапи, причому на першому етапі видаляють білок шляхом обробки осаду 3-6 %-им розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-5) при 45-65 °С протягом 0,5-3,0 годин, а на другому етапі видаляють глікоген

35

шляхом обробки осаду 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:(1-3) і нагрівають реакційну суміш до температури не більш 75 °С, осад відокремлюють від супернатанту, промивають гарячою водою, знову відокремлюють від супернатанту і висушують спочатку етиловим спиртом, а після - ефіром.

5

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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