



УКРАЇНА

(19) UA (11) 63014 (13) U

(51) МПК

A23L 1/30 (2006.01)

A23L 1/308 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) БІОЛОГІЧНО АКТИВНА ДОБАВКА

1

2

(21) u201102174

(22) 24.02.2011

(24) 26.09.2011

(46) 26.09.2011, Бюл.№ 18, 2011 р.

(72) ЧЕРНО НАТАЛІЯ КИРИЛІВНА, РУСЕВА ЯНА ПЕТРІВНА

(73) ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Біологічно активна добавка, що містить біорегулятор, водорозчинні харчові волокна полісахариду і компоненти насіння, яка відрізняється тим,

що як біорегулятор вона містить інгібітор протеаз Кунітца, як водорозчинні харчові волокна полісахариду - агар, а як компоненти насіння - компоненти бобів сої, за наступним співвідношенням вказаних інгредієнтів, мас. %:

водорозчинні харчові волокна агару	75-90
інгібітор протеаз Кунітца	3,0-5,0
компоненти бобів сої	решта.

Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до технології виробництва біологічно активних добавок (БАД), на основі водорозчинних полісахаридів.

Стрімкий розвиток та прогресування багатьох важких захворювань людства за останні десятиріччя визначають доцільність введення у раціон харчування функціональних продуктів та БАД, які володіють профілактичними властивостями. Метою застосування таких харчових засобів є регуляція та нормалізація різних функцій організму при захворюваннях та для їх профілактики. Багато функціональних продуктів містять речовини адаптогенної та тонізуючої дії, які стимулюють захисні сили організму, підвищують загальну стійкість та життєвий тонус, фізичну та розумову працездатність, знижують негативну дію навколишнього середовища та стресів. Тому розробка і використання вітчизняних БАД є актуальною необхідністю.

На даний момент препаратів, що регулюють ферментативну активність в організмі людини, недостатньо. Тому у зв'язку з поширенням низки захворювань, пов'язаних з порушенням роботи ферментної системи організму необхідність в цих препаратах очевидна. В даний час усе більше поширення набуває використання інгібіторів ферментів рослинного походження як лікувально-профілактичних засобів, які в порівнянні з мікробними та синтетичними аналогами не викликають токсичні, алергічні реакції та звикання; не пригнічують синтез власних ферментів організму. Різноманіття фізіологічних ефектів інгібіторів обумовлює їх важливість в профілактиці та лікуванні ряду важких захворювань. Хвороби, які на даний час набувають статусу епідеміологічних, в значній мірі пов'язані з порушеннями білкового обміну, в нормалізації якого відіграють важливу роль інгібітори протеолітичних ферментів. Вони приймають участь у регулюванні функцій протеаз шлунково-кишкового тракту, кровоносної системи, клітин шкіри та інших органів.

Відомо, що гіперфункція секреції протеаз є основною ланкою в патогенезі панкреатитів різної етіології, захворювань системи згортання крові, шоккових та алергічних станів та ін. Також вони виявляють антивірусну, антимікробну активність, мають протизапальну, антикоагуляційну та антиканцерогенну дію, для чого достатньо дуже малих кількостей інгібітора (див. Сыновец А.С. Ингибиторы протеолитических ферментов в медицине / А.С.Сыновец, А.П.Левицкий - 2-е изд., перераб. и доп. - К.: Здоровье, 1985. - 72 с).

Найближчою до корисної моделі, що заявляється є БАД на основі водорозчинних харчових волокон полісахаридів. Ця біологічно активна добавка містить такі компоненти, мас. %:

водорозчинні харчові волокна полісахаридів	70-95
інгібітор трипсину	2,0-3,0
компоненти насіння люцерни	решта.

(див. патент України на корисну модель № 42548. МПК (2009) A23L 1/30; A23L 1/308. Біологі-

(19) UA (11) 63014 (13) U

чно активна добавка / Черно Н. К., Крусір Г. В., Русева Я. П.; опубл. 10.07.2009, Бюл. № 13. - 6 с.)

Біологічно активну добавку за прототипом готують у такий спосіб.

Гомогенізоване насіння люцерни попередньо знежирюють 10-ма об'ємами петролейного ефіру в апараті Сокслета. До 5 г насіння додають 500 мл 0,1 М боратного буферу, рН = 7,6, який містить 0,5 М NaCl. Екстракцію проводять при постійному перемішуванні на магнітній мішалці (число обертів 5000 об/хв.) при кімнатній температурі впродовж 1 години. Осад відокремлюють за допомогою центрифугування при швидкості 8000 об/хв. впродовж 20 хвилин. Супернатант (500 мл) нагрівають до температури 70 °С впродовж 15 хвилин. В гарячий супернатант вводять 1 г полісахариду цитрусового пектину, перемішують впродовж 1 години (500 об/хв.). Осад відділяють центрифугуванням (5000 об/хв. впродовж 10 хвилин) та висушують шаром 0,2...0,5 мм при $t=(40 \pm 2)$ °С протягом 3 годин.

Прототип I корисна модель, що заявляється, мають такі спільні ознаки:

- водорозчинні харчові волокна полісахариду;
- біорегулятор;
- компоненти насіння.

Але, біологічно активна добавка за прототипом має такий недолік: як джерело інгібітора трипсину використовують насіння люцерни, яке використовується для вирощування кормової люцерни та основна частина його використовується саме для цієї мети, тоді як соя є більш поширеною та використовується не тільки у сільському господарстві, що визначає її низьку собівартість.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити біологічно активну добавку, в якій шляхом заміни біорегулятора, водорозчинних харчових волокон полісахариду і компонентів насіння буде забезпечення розширення асортименту біологічно активних добавок та покращення стану здоров'я людей за допомогою регулювання білкового обміну в організмі.

Поставлена задача вирішена складом біологічно активної добавки, що містить біорегулятор, водорозчинні харчові волокна полісахариду і компоненти насіння, тим що як біорегулятор вона містить інгібітор протеаз Кунітца, як водорозчинні харчові волокна полісахариду - агар, а як компоненти насіння - компоненти бобів сої, за наступним співвідношенням вказаних інгредієнтів, мас. %:

водорозчинні харчові волокна агару	75-90
інгібітор протеаз Кунітца	3,0-5,0
компоненти бобів сої	решта.

В прототипі як джерела інгібітора трипсину використовували насіння люцерни, яке не перероблюється у харчовій промисловості, лише невелика кількість його використовується у сільському господарстві при вирощуванні рослин на корм великої рогатої худоби.

В заявленій біологічно активній добавці як джерело інгібітора протеаз Кунітца використовуються боби сої, вирощування якої в останній час набуло широкого поширення завдяки високим споживним властивостям цих бобів, що пояснює

низьку вартість такої сировини. Джерелом водорозчинних харчових волокон є водорозчинний полісахарид агар, який є продуктом промислового багатотоннажного виробництва.

Найефективніший екстрагент для вилучення інгібіторів та масове співвідношення водорозчинних харчових волокон та інгібітору протеаз бобів сої підібрано експериментально. Зміна екстрагуючого агента впливає на ступінь вилучення інгібітора протеаз у екстракт, а відповідно і на його активність (див. табл. № 1, 2). Зменшення або збільшення концентрації водорозчинних харчових волокон призводить до зниження активності соєвого інгібітора протеаз (див. табл. № 3). Було проведено вивчення впливу різних полісахаридів на активність БАД. Проведені дослідження показали, що найкращий результат досягається при використанні агару (див. табл. № 4).

Біологічно активну добавку на основі агару та соєвого інгібітора протеаз Кунітца готують наступним чином: гомогенізовані боби сої попередньо знежирюють 10-ма об'ємами петролейного ефіру в апараті Сокслета. Екстракцію інгібітора Кунітца проводять екстрагуючими агентами, рН 4,5 - 7,4 (гідромодуль 20), при постійному перемішуванні на магнітній мішалці (20 об/хв.) при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Осад відокремлюють від супернатанту за допомогою центрифугування при швидкості 6000 обертів за хвилину впродовж 20 хвилин.

Супернатант та розчин агару концентраціями 0,5 - 5,0 % зливають у об'ємному співвідношенні 4:1. Після поступового вливання розчину агару у супернатант при постійному перемішуванні (20 об/хв.) вимірюють рН середовища реакційної суміші, та при необхідності доводять значення рН до величини ізоелектричної точки інгібітору Кунітца, яка складає 4,5, невеликою кількістю 0,01 М розчину HCl для осадження залишку незв'язаного інгібітору Кунітца. Осад відокремлюють від супернатанту за допомогою центрифугування при швидкості 6000 обертів за хвилину впродовж 20 хвилин.

Приклад 1. Гомогенізовані боби сої попередньо знежирюють 10-ма об'ємами петролейного ефіру в апараті Сокслета. До 5 г бобів додають 100 мл NaCl концентрацією 0,5 М у 0,1 М ацетатному буфері, рН 7,4 (гідромодуль 20), при постійному перемішуванні на магнітній мішалці (20 об/хв.) при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Осад відокремлюють від супернатанту за допомогою центрифугування при швидкості 6000 обертів за хвилину впродовж 20 хвилин.

Супернатант та розчин агару концентрацією 0,5 % зливають у об'ємному співвідношенні 4:1. Після поступового вливання розчину агару у супернатант при постійному перемішуванні (20 об/хв.) вимірюють рН середовища реакційної суміші, та при необхідності доводять значення рН до величини ізоелектричної точки інгібітору Кунітца, яка складає 4,5, невеликою кількістю 0,01 М розчину HCl для осадження залишку незв'язаного інгібітору Кунітца. Осад відокремлюють від супернатанту за допомогою центрифугування при швидкості 6000 обертів за хвилину впродовж 20 хвилин. Маса осаду: 0,97 г.

Одержана таким чином біологічно активна до-
бавка містить наступні компоненти, мас. %:

водорозчинні харчові волокна ага-
ру 83,76
інгібітор протеаз Кунітца 3,98
компоненти бобів сої 12,26.

Приклад 2. Отримали БАД аналогічно прикла-
ду 1 з наступним співвідношенням компонентів,
мас. %:

водорозчинні харчові волокна ага- 75

ру
інгібітор протеаз Кунітца 3,0
компоненти бобів сої 22,0.

Приклад 3. Отримали БАД аналогічно прикла-
ду 1 з наступним співвідношенням компонентів,
мас. %:

водорозчинні харчові волокна 90
агару 5,0
інгібітор протеаз Кунітца 5,0
компоненти бобів сої 5.

Таблиця 1

Вплив рН буферної системи на інгібіторну активність

№№ п/п	Екстрагуючий агент	рН	Питома інгібіторна активність, ІО/ мг білка
1	Ацетатний буфер, 0,1 М	4,5	0,173
2		6,0	0,163
3		7,4	0,220

Таблиця 2

Вплив природи екстрагуючих речовин на інгібіторну активність

№№ п/п	Екстрагуючий агент	Питома інгібіторна активність, ІО/ мг білка
1	Дистильована вода	0,005
2	0,1 М розчин NaCl	0,006
3	0,15 М розчин NaCl	0,007
4	0,5 М розчин NaCl	0,007
5	1 М розчин NaCl	0,012
6	1 М розчин сечовини	0,266
7	0,1 М ацетатний буфер, рН 7,4 + NaCl концентрацією 0,1 М	0,269
8	0,1 М ацетатний буфер, рН 7,4 + NaCl концентрацією 0,15 М	0,279
9	0,1 М ацетатний буфер, рН 7,4 + NaCl концентрацією 0,5 М	0,290
10	0,1 М ацетатний буфер, рН 7,4 + сахароза концентрацією 0,5 М	0,224
11	0,1 М ацетатний буфер, рН 7,4 + гліцерин концентрацією 0,5 М	0,210

Таблиця 3

Вплив концентрації полісахариду на активність БАД

№№ п/п	Концентрація полісахаридів в розчині, мас. %	Інгібіторна активність БАД, % від макс.
1	0,1	79,8
2	0,2	86,7
3	0,3	85,4
4	0,4	78,6
5	0,5	74,2
6	0,6	69,5
7	0,7	63,4
8	0,8	58,9
9	0,9	54,7
10	1,0	50,8

Таблиця 4

Вплив природи полісахариду на активність БАД

№№ п/п	Полісахариди	Інгібіторна активність БАД, % від макс.
1	Агар	88,6
2	Буряковий пектин	35,2
3	Яблучний пектин	33,3
4	Цитрусовий пектин	40,3
5	κ -Карагінан	21,1
6	Альгінат натрію	20,4
7	λ -Карагінан	11,8
8	Гуміарабік	4,2
9	Карбоксиметилцелюлоза	14,6