



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 98933

(13) U

(51) МПК

A23K 1/14 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 13127**

(22) Дата подання заявки: **08.12.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.05.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.05.2015, Бюл.№ 9**

(72) Винахідник(и):

**Капельянец Леонід Вікторович (UA),
Журлова Олена Дмитрівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,
вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)**

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КОНЦЕНТРАТУ ПОЛІФЕНОЛІВ

(57) Реферат:

Спосіб одержання концентрату поліфенолів шляхом ферментативного гідролізу висівок злакових культур, причому ферментативний гідроліз житніх або пшеничних висівок здійснюють поетапно, спочатку 0,0001-0,01 %-ою α -амілазою з активністю 2000 АО/г і 0,0001-0,01 %-ою глюкоамілазою з активністю 6000 АО/г протягом 0,5-1,0 год., після цього 0,001-0,1 %-ою протеазою з активністю 70 АО/г, далі ферменти інактивують кип'ятінням суміші протягом 8-12 хв і відокремлюють осад від супернатанту, до осаду додають 0,0001-0,1 %-ий мультиферментний препарат Viscozyme L з активністю 100 АО/г і проводять ферментативний гідроліз протягом 2-4 годин, осад відокремлюють від супернатанту, який очищають 96 %-им етанолом, осад, який утворився, відокремлюють і супернатант сушать. Концентрат містить 912 мг/г поліфенолів.

UA 98933 U

Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до способу одержання концентрату поліфенолів з пшеничних або житніх висівок.

Відомий спосіб одержання концентрату поліфенолів зі злакових і олійних культур (див. патент US 6,245,363 B1). Процес проводили за такою схемою.

5 Пшеничні висівки (500 мг) додавали до води (10 мл, рН 7,0), яка містить фермент Celluzyme (10 мг, Novo Nordisk), ферментативний гідроліз проводили при 45 °С з постійним перемішуванням протягом 4-х годин. Рівень рН підтримували шляхом додавання гідроксиду натрію (0,1 М). Кількість отриманих в екстракті поліфенолів становила 7 % від загального вмісту поліфенолів у сировині. Ідентично до наведеного способу обробляли знекрохмалені пшеничні

10 висівки. Кількість отриманих в екстракті поліфенолів становила 58 % від загального вмісту поліфенолів у сировині.

Даний спосіб обрано прототипом.

Прототип і спосіб, що заявляється мають спільну ознаку - обробка сировини розчином ферменту.

15 Недоліком цього способу є низький вихід поліфенолів через відсутність стадії видалення крохмалю та білкових речовин. Окрім того отриманий екстракт містить велику кількість домішок.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити ефективний спосіб одержання концентрату поліфенолів, в якому шляхом створення оптимальних умов екстрагування та очищення забезпечити одержання концентрату з максимальним вмістом поліфенолів з

20 мінімальною кількістю домішок.

Поставлена задача вирішена в способі одержання концентрату поліфенолів шляхом ферментативного гідролізу висівок злакових культур, тим, що на відміну від прототипу, ферментативний гідроліз житніх або пшеничних висівок здійснюють поетапно, спочатку 0,0001-0,01 %-ою α -амілазою з активністю 2000 АО/г і 0,0001-0,01 %-ою глюкоамілазою з активністю 6000 АО/г протягом 0,5-1,0 год., після цього 0,001-0,1 %-ою протеазою з активністю 70 АО/г, далі ферменти інактивують кип'ятінням суміші протягом 8-12 хв і відокремлюють осад від супернатанту, до осаду додають 0,0001-0,1 %-ий мультиферментний препарат Viscozyme L з активністю 100 АО/г і проводять ферментативний гідроліз протягом 2-4 год., осад відокремлюють від супернатанту, який очищають 96 %-им етанолом, осад, який утворився

30 відокремлюють і супернатант сушать. Концентрат містить 912 мг/г поліфенолів.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Житні або пшеничні висівки подрібнюють на млині до розміру часток 0,75...1 мм, потім здійснюється ферментативний гідроліз 0,0001...0,01 % α -амілазою (активність 2000 АО/г, рН 5) та глюкоамілазою (активність 6000 АО/г, рН 5) з гідромодулем 1:(8...10), 0,5...1 год. при

35 40...55 °С, 0,001...0,1 % протеазою (активність 70 АО/г, рН 5) з гідромодулем 1:(8...10), 0,5...1 год при 40...55 °С. Ферменти інактивують кип'ятінням протягом 10 хв. Після цього суміш центрифугують при 6000 об/хв протягом 10 хв для відділення осаду від супернатанту. До осаду, що утворився, додають 0,0001...0,01 % мультиферментний препарат Viscozyme L (активність 100 АО/г, рН 4) з гідромодулем 1: (8...10) і проводять ферментативний гідроліз 2...4 год. при

40 35...55 °С. Після цього суміш центрифугують при 6000 об/хв протягом 10 хв для відділення осаду від супернатанту. Супернатант очищують 96 %-им етанолом у співвідношенні 1:(1...4). Далі суміш центрифугують при 8000 об/хв протягом 10 хв для відділення осаду від супернатанту. Отриманий супернатант висушують.

Одержаний концентрат поліфенолів представляє собою дрібний порошок блідо-жовтого

45 кольору і містить 912 мг/г поліфенолів.

Приклади здійснення способу.

Приклад 1.

100 г житніх висівок подрібнюють на млині до розміру часток 0,75 мм, потім здійснюють ферментативний гідроліз 0,001 % α -амілазою (активність 2000 АО/г, рН5), 0,0006 %

50 глюкоамілазою (активність 6000 АО/г, рН 5) з гідромодулем 1:10 (на 1 г висівок 10мл розчину ферменту α -амілази 10мл розчину глюкоамілази), 0,5 год. при 55 °С потім в суміш додають 0,005 % протеази (активність 70 АО/г, рН 5) і продовжують гідроліз 0,5 год. при 55 °С. Ферменти інактивують кип'ятінням протягом 10 хв. Після цього суміш центрифугують при 6000 об/хв

55 протягом 10 хв при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. До осаду, що утворився додають 0,001 % мультиферментний препарат Viscozyme L (активність 100 АО/г, рН 4) з гідромодулем 1:10 і проводять ферментативний гідроліз 4 год. при 50 °С. Після цього суміш центрифугують при 6000 об/хв протягом 10хв при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Супернатант очищують 96 %-им етанолом у співвідношенні 1:3 (на 600 мл екстракту 1800 мл етанолу). Далі суміш центрифугують при 8000 об/хв протягом 10 хв при

60 кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий супернатант

висушують. Вихід концентрату поліфенолів складав 320 мг ($90,1 \pm 0,03$ %) від загального вмісту поліфенолів у сировині.

Приклад 2.

100 г пшеничних висівок подрібнюють на млині до розміру часток 0,75 мм, потім здійснюють ферментативний гідроліз 0,001 % α -амілазою (активність 2000 АО/г, рН 5), 0,0006 % глюкоамілазою (активність 6000 АО/г, рН 5) з гідромодулем 1:10 (на 1 г висівок 10 мл розчину ферменту α -амілази 10мл розчину глюкоамілази), 0,5 год. при 55 °С потім в суміш додають 0,005 % протеази (активність 70 АО/г, рН 5) і продовжують гідроліз 0,5 год. при 55 °С. Ферменти інактивують кип'ятінням протягом 10хв. Після цього суміш центрифугують при 6000 об/хв протягом 10хв при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. До осаду, що утворився, додають 0,001 % мультиферментний препарат Viscozyme L (активність 100 АО/г, рН 4) з гідромодулем 1:10 і проводять ферментативний гідроліз 4 год. при 50 °С. Після чого суміш центрифугують при 6000 об/хв протягом 10хв при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Супернатант очищують 96 %-им етанолом у співвідношенні 1:3 (на 600 мл екстракту 1800 мл етанолу). Далі суміш центрифугують при 8000 об/хв протягом 10хв при кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий супернатант висушують. Вихід концентрату поліфенолів складав 300 мг ($90,1 \pm 0,03$ %) від загального вмісту поліфенолів у сировині.

Приклади 3 і 4 здійснюють аналогічно прикладу 1, але ферментативний гідроліз проводять при різних концентраціях ферментів. Отримані дані наведені в таблиці 1.

Приклади 5, 6 здійснюють аналогічно прикладу 2, але ферментативний гідроліз проводять при різних концентраціях ферментів. Отримані дані наведені в таблиці 2.

Як видно з даних, наведених в таблицях, оптимальними є концентрації ферментів α -амілази, глюкоамілази, протеази та мультиферментного препарату Viscozyme L 0,0095...0,001 %; 0,0006...0,00065 %;

0,0045...0,005 % і 0,001...0,0015 % відповідно. При цьому досягається максимальний вихід концентрату поліфенолів з мінімальним вмістом домішок.

Таблиця 1

Вплив концентрації ферментів на вихід поліфенолів з житніх висівок

Концентрація ферментів, %	№ прикладу		
	1	3	4
α -амілази	0,001	0,0007	0,004
глюкоамілази	0,0006	0,0004	0,006
протеази	0,005	0,002	0,008
мультиферментного препарату Viscozyme L	0,001	0,0007	0,007
Вихід поліфенолів, %	$90,1 \pm 0,03$	$54,5 \pm 0,03$	$86,1 \pm 0,03$

Таблиця 2

Вплив концентрації ферментів на вихід поліфенолів з пшеничних висівок

Концентрація ферментів, %	№ прикладу		
	2	5	6
α -амілази	0,001	0,0001	0,01
глюкоамілази	0,0006	0,0001	0,01
протеази	0,005	0,001	0,1
мультиферментного препарату Viscozyme L	0,001	0,0001	0,01
Вихід поліфенолів, %	$90,1 \pm 0,03$	$21,4 \pm 0,03$	$87,6 \pm 0,03$

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб одержання концентрату поліфенолів шляхом ферментативного гідролізу висівок злакових культур, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз житніх або пшеничних висівок здійснюють поетапно, спочатку 0,0001-0,01 %-ою α -амілазою з активністю 2000 АО/г і 0,0001-0,01 %-ою глюкоамілазою з активністю 6000 АО/г протягом 0,5-1,0 год., після цього

- 0,001-0,1 %-ою протеазою з активністю 70 АО/г, далі ферменти інактивують кип'ятінням суміші протягом 8-12 хв і відокремлюють осад від супернатанту, до осаду додають 0,0001-0,1 %-ий мультиферментний препарат Viscozyme L з активністю 100 АО/г і проводять ферментативний гідроліз протягом 2-4 годин, осад відокремлюють від супернатанту, який очищають 96 %-им етанолом, осад, який утворився, відокремлюють і супернатант сушать; концентрат містить 912 мг/г поліфенолів.
- 5 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз проводять при 40-45 °С і гідромодулі 1: (8-12).

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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