



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **86714** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
C12P 19/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2013 08049	(72) Винахідник(и):	Черно Наталія Кирилівна (UA), Коваленко Олексій Володимирович (UA), Шапкіна Кристина Ігорівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	25.06.2013	(73) Власник(и):	ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.01.2014		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.01.2014, Бюл.№ 1		

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ β -ГЛЮКАНУ ХЛІБОПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ

(57) Реферат:

Спосіб одержання β -глюкану хлібопекарських дріжджів включає обробку хлібопекарських дріжджів розчином H_2O_2 , відокремлення осаду, обробку його розчином NaOH і оцтової кислоти та наступне сушіння цільового продукту. Хлібопекарські дріжджі обробляють 3-24 % розчином H_2O_2 , а обробку розчином NaOH здійснюють в два етапи. На першому етапі осад обробляють 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(1-2) і кімнатній температурі протягом 0,5-2,0 годин, а на другому етапі осад обробляють 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-3) при 45-65 °C протягом 1,0-2,0 годин.

UA 86714 U

Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до технології одержання (β -глюкану з клітинних стінок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*, який призначений для профілактики імунного стану здоров'я людини.

5 β -глюкани являють собою мультимодальні модулятори біологічної реактивності організму зі значним клінічним протипухлинним та протиінфекційним потенціалом (Беседнова Н.Н. Иммунотропные свойства (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 6)- β -D-глюканов [Текст] / Н.Н. Беседнова, Л.А. Иванушко, Т.Н. Звягинцева Л.А. Елякова // Антибиотики и химиотерапия.-2000. - № 5. - С. 37-44.).

Відомий спосіб одержання (3-глюкану клітинних стінок дріжджів (див. Кочетков Н.К. Методы химии углеводов. - М.: Мир, 1967. - С. 382-383), який передбачає подрібнення 6 кг свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів і обробку 6 % розчином NaOH. Далі суспензію перемішують при нагріванні до температури 60 °С. Після розбавлення суспензії до 40 дм³, отриману суміш центрифугують. Отриманий залишок суспендують з 10 дм³ 3 % розчином NaOH протягом 3 годин. Після розбавлення 20 дм³ води твердий залишок відокремлюють, потім суспендують у 10 дм³ води та нагрівають до температури 80 °С. Суміш доводять до pH=4,5 та фільтрують. Твердий залишок знову нагрівають при температурі 80 °С впродовж 2 годин з 5 дм³ 3 % розчином NaOH. Після центрифугування твердий залишок суспендують у воді, доводять pH=4,5 та відокремлюють твердий залишок фільтруванням. Далі залишок суспендують з 2 дм³ 0,5 н розчином оцтової кислоти при температурі 75 °С. Після охолодження драгледоподібну масу відокремлюють центрифугуванням та тричі промивають водою нагрітою до температури 75 °С. Потім твердий залишок нагрівають в автоклаві при температурі 135 °С впродовж 1 години з 2 дм³ 0,02 М розчину ацетату натрію (pH=7,0). Після охолодження додають 2 дм³ води, відокремлюють твердий залишок центрифугуванням, далі нагрівають у автоклаві при температурі 135 °С з 3 дм³ води та промивають осад доки промивні води не будуть давати червоне забарвлення з розчином йоду. Драгледоподібну масу відокремлюють центрифугуванням та проводять процес сушіння. Отриманий в результаті глюкан містить 90,3 % полісахаридної складової, 0,6 % азоту; вихід - 2,6 % на суху речовину.

Але отриманий таким чином препарат має низький вихід цільового продукту та великі затрати на проведення процесу одержання β -глюкану.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб одержання біологічно активної добавки з клітинних стінок дріжджів (див. патент UA №73804 "Спосіб одержання біологічно активної добавки" на корисну модель), який передбачає обробку хлібопекарських дріжджів розчином H₂O₂ концентрацією 3 % при гідромодулі 1:(2-3) протягом 1-24 годин, після чого осад відокремлюють і промивають водою, а виділення проводять в два етапи, при цьому на першому етапі видаляють білок шляхом обробки осаду 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-5) при 35 45-65 °С протягом 0,5-3,0 годин, а на другому етапі видаляють глікоген шляхом обробки осаду 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:(1-3) і нагріванні реакційної суміші до температури не більше 75 °С, осад відокремлюють від супернатанту, промивають гарячою водою, знову відокремлюють від супернатанту і сушать спочатку етиловим спиртом, а потім - ефіром. Вихід препарату складає 10,8-16,4 % від с. р. дріжджів, азоту 0,8-3,2 %, у результаті проведення хроматографічного аналізу продуктів кислотного гідролізу комплексу було встановлено наявність в ньому глюкози і манози. Це відповідає вкладу β -глюканової та мананової складової в інтегральний полісахаридний комплекс.

Даний спосіб вибрано прототипом.

Прототип і спосіб, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- 45 - обробка пресованих хлібопекарських дріжджів H₂O₂;
- виділення білка розчином гідроксидом натрію;
- виділення глікогену розчином оцтової кислоти;
- сушіння цільового продукту.

Але, отриманий таким чином препарат має недолік, а саме наявність манану, який, як 50 відомо, знижує біологічну активність β -глюкану.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити ефективний спосіб одержання β -глюкану клітинних стінок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*, в якому шляхом попередньої руйнації клітинної оболонки дріжджів та розробки оптимальних умов видалення білка, манану та глікогену, забезпечити отримання препарату з високим ступенем 55 чистоти економічно вигідним способом.

Поставлена задача вирішується у способі, що передбачає обробку хлібопекарських дріжджів розчином H₂O₂, відокремлення осаду, обробку його розчином NaOH і оцтової кислоти та наступне сушіння цільового продукту, який відрізняється, тим що хлібопекарські дріжджі обробляють 3-24 % розчином H₂O₂, а обробку розчином NaOH здійснюють в два етапи, при 60 цьому на першому етапі осад обробляють 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(1-2) при

кімнатній температурі протягом 0,5-2,0 годин, а на другому етапі осад обробляють 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-3) при 45-65 °C протягом 1,0-2,0 годин.

Режими руйнування клітинної оболонки дріжджів, видалення білка, манану та глікогену підібрані експериментально. Методом ІЧ-спектроскопії встановлено, що отриманий таким чином препарат є β-глюканом. Результати проведення хроматографічного аналізу продуктів гідролізу β-глюкану показали наявність в ньому тільки глюкози. В таблиці 1 представлено хімічний склад отриманого β-глюкану.

Новизна заявленого способу полягає в тому, що хлібопекарські дріжджі обробляють 3-24 % розчином H₂O₂ протягом 1-5 годин після чого осад відокремлюють і промивають водою, а виділення манану, білка та глікогену проводять в три етапи:

- на першому етапі видаляють невелику частину білка та більшу частину манану шляхом обробки осаду 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(1-2) при кімнатній температурі протягом 0,5-2,0 годин;

- на другому етапі видаляють остаточний білок та манан шляхом обробки осаду 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-3) при 45-65 °C протягом 1,0-2,0 годин;

- на третьому - видаляють глікоген шляхом обробки осаду 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:(1-3) і нагріванні реакційної суміші до температури не більше 75 °C, осад відокремлюють від супернатанту, промивають гарячою водою, знову відокремлюють від супернатанту.

Далі проводять процес сушіння осаду спочатку етиловим спиртом, а після - ефіром. Вихід препарату складає 8,1-19,7 % на с. р. дріжджів.

Приклад № 1

При виділенні заявлюваного глюкану 50 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляли 50 см розчином пероксиду водню масовою часткою 24 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Осад промивали водою та знову центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 3 % протягом 0,5 годин з періодичним перемішуванням при кімнатній температурі, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 6 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при температурі 60 °C, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад промивали водою та нейтралізували 0,1 н HCl, знову центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин. Одержаний осад змішували з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:2 та нагрівали до температури 75 °C для видалення глікогену, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивали водою, нагрітою до 75 °C, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушували поступово етанолом, а потім ефіром. Отриманий препарат являв собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 2

При виділенні заявлюваного глюкану 50 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляли 50 см³ розчином пероксиду водню масовою часткою 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Осад промивали водою та знову центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при кімнатній температурі, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при температурі 65 °C, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад промивали водою та нейтралізували 0,1 н HCl, знову центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин. Одержаний осад змішували з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:1 та нагрівали до температури 75 °C для видалення глікогену, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивали водою, нагрітою до 75 °C, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушували поступово етанолом, а потім ефіром. Отриманий препарат являв собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 3

При виділенні заявлюваного глюкану 50 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляли 125 см³ розчином пероксиду водню масовою часткою 13 %

протягом 1 години з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Осад промивали водою та знову центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 6 % протягом 0,5 годин з періодичним перемішуванням при кімнатній температурі, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 6 % протягом 2 годин з періодичним перемішуванням при температурі 60 °С, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад промивали водою та нейтралізували 0,1 н НС1, знову центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин. Одержаний осад змішували з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:2 та нагрівали до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивали водою, нагрітою до 75 °С, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушували поступово етанолом, а потім ефіром. Отриманий препарат являв собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Приклад № 4

При виділенні заявлюваного глюкану 50 г свіжих пресованих хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* обробляли 50 см³ розчином пероксиду водню масовою часткою 3 % протягом 5 годин з періодичним перемішуванням, після чого суміш центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Осад промивали водою та знову центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 3 % протягом 1 години з періодичним перемішуванням при кімнатній температурі, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад заливали 100 см³ розчином гідроксиду натрію масовою часткою 6 % протягом 2 годин з періодичним перемішуванням при температурі 60 °С, потім суспензію центрифугували при 8000 об./хв 10 хвилин. Отриманий осад промивали водою та нейтралізували 0,1 н НС1, знову центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин. Одержаний осад змішували з 0,5 н розчином оцтової кислоти при гідромодулі 1:3 та нагрівали до температури 75 °С для видалення глікогену, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад промивали водою, нагрітою до 75 °С, центрифугували при 8000 об./хв 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад висушували поступово етанолом, а потім. Отриманий препарат являв собою дрібний порошок світлого кольору. Характеристика і вихід цільового продукту наведено в таблиці 2.

Таблиця 1

Хімічний склад β-глюкану

Показники	Вміст, %
Полісахарид	82,6-97,3
Білок	0-14,5
Ліпіди	0,8-1,6
Глікоген	відсутній

Таблиця 2

Характеристика і вихід цільового продукту, отриманого за прикладами № 1-4

№ прикладу	Вихід препарату, % від сухої маси	Вміст полісахариду, %	Вміст білка, %
1	14,3	92,2	7,3
2	19,7	82,5	14,5
3	12,2	93,9	1,8
4	12,0	91,3	5,2

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання β-глюкану хлібопекарських дріжджів, що включає обробку хлібопекарських дріжджів розчином H₂O₂, відокремлення осаду, обробку його розчином NaOH і оцтової кислоти та наступне сушіння цільового продукту, який **відрізняється** тим, що хлібопекарські дріжджі

обробляють 3-24 % розчином H_2O_2 , а обробку розчином NaOH здійснюють в два етапи, при цьому на першому етапі осад обробляють 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(1-2) і кімнатній температурі протягом 0,5-2,0 годин, а на другому етапі осад обробляють 3-6 % розчином NaOH при гідромодулі 1:(2-3) при 45-65 °C протягом 1,0-2,0 годин.

5

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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