



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 148022

(13) U

(51) МПК

C12N 11/02 (2006.01)

A23L 33/10 (2016.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: а 2018 11296	(72) Винахідник(и): Черно Наталія Кирилівна (UA), Науменко Кристина Ігорівна (UA), Антіпіна Олена Олексіївна (UA), Бордя Давид Павлович (UA)
(22) Дата подання заявки: 16.11.2018	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 01.07.2021	
(41) Публікація відомостей про заяву: 10.04.2019, Бюл.№ 7	(73) Володілець (володільці): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 30.06.2021, Бюл.№ 26	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ГЛЮКАН-ПАПАЇНОВОГО КОМПЛЕКСУ

(57) Реферат:

Спосіб одержання глюкан-папаїнового комплексу включає приготування водного розчину, що містить 0,5-1,5 мас. % папаїну, водного розчину, що містить 0,5-1,0 мас. % водорозчинного глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisia*, змішування приготовлених водних розчинів при їх співвідношенні (0,5-2,0):1 відповідно при кімнатній температурі. Після чого суміш водних розчинів сушать при температурі не більш 50 °С до залишкової вологості не більш 8 %.

UA 148022 U

Корисна модель належить до харчової промисловості, зокрема до способу одержання комплексу папаїну з водорозчинним глюканом дріжджів, який має протеолітичну активність. Даний комплекс може бути використано як дієтична добавка або як засіб лікувально-профілактичної дії.

На сьогоднішній день великої актуальності набула розробка в біотехнології нових функціональних інгредієнтів і створення на їх основі нових препаратів, до складу яких входять біологічно активні компоненти (вітаміни, ферменти, гормони). Сучасний ринок біопрепаратів надає широкий асортимент препаратів на основі іммобілізованих ферментів для лікування і профілактики ферментативних порушень організму людини, однак технологія виробництва і, відповідно, фінансова політика дещо ускладнює доступність вибору.

В даний час усе більше набуває поширення використання ферментів рослинного походження як лікувально-профілактичних засобів, які, в порівнянні з мікробними та синтетичними аналогами, не викликають звикання, токсичні й алергічні реакції; не знижують синтез власних ферментів організму.

Одним з розповсюджених протеолітичних ферментів рослинного походження є папаїн. Він здатний гідролізувати практично будь-які пептидні зв'язки, має широку субстратну специфічність в порівнянні з панкреатином. Крім того, папаїн має протизапальну, протипухлинну, гепатопротекторну та імуномодельюючу дії, має здатність руйнувати токсини багатьох збудників інфекційних захворювань, у тому числі правця. Він покращує реологічні властивості крові та регіональну мікроциркуляцію, має антикоагулятивну активність. Завдяки фібринолітичним властивостям його застосовують для прискорення загоєння ран.

Але відомо, що ферменти рослинного походження мають низьку рН- і термостабільність, що визначає доцільність їхньої стабілізації [Черно. Н. К. Біокоректори процесів травлення / Н. К. Черно, Г. В. Крусір, О. Коваленко // Одеса: Астропринт. - 2010.].

Для вирішення цієї проблеми раціонально застосовувати технологію іммобілізації ферменту рослинного походження - папаїну, на основі інертної полісахаридної матриці. Як таку матрицю можливо застосовувати β -глюкан дріжджів, що має широкий спектр біологічної активності - імуномодельююча, протипухлинна, радіопротекторна, антиоксидантна та протизапальна, а також здатність знижувати рівні холестерину і глюкози в крові. Отже комплексоутворення ферментів з такими полісахаридами може сприяти як зберіганню активності і пролонгації їхньої дії, так і зумовлюватиме розширення спектра біологічної дії комплексу.

З науково-технічної і патентної літератури заявнику невідомо комплекс папаїну з водорозчинним глюканом дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, а також способи його одержання.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб одержання раніше невідомого комплексу папаїну з водорозчинним глюканом дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, який має протеолітичну активність.

Поставлена задача вирішена способом одержання глюкан-папаїнового комплексу, у відповідності до якого готують водний розчин, що містить 0,5-1,5 мас. % папаїну, водний розчин, що містить 0,5-1,0 мас. % водорозчинного глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, приготовлені водні розчини змішують при їх співвідношенні (0,5-2,0):1 відповідно при кімнатній температурі, після чого суміш водних розчинів сушать при температурі не більш 50 °C до залишкової вологості не більш 8 %.

Режими отримання комплексу визначали дослідним шляхом.

Комплекс водорозчинного глюкану з протеолітичним ферментом папаїном одержували, варіюючи масову частку папаїну в розчині від 0,5 до 1,5 %, глюкану - від 0,5 до 1,0 % при співвідношенні об'ємів водних розчинів полісахариду та ферменту 1:0,5 до 1:2, при $t=23$ °C, тривалості процесу комплексоутворення 15 хвилин (при збільшенні часу витримки комплексу - результат не покращувався).

Водорозчинний глюкан одержували ферментативним гідролізом структурного глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* [Пат. на корисну модель № 83594, МПК (2013) C12P 19/04 (2006.01), A23L 1/30 (2006.01). Спосіб одержання водорозчинного β -глюкану / Черно Н. К., Шапкина К. І., Коваленко О. В.; власник Одес. нац. акад. харч. технологій. - № у 2012 14015; Заявл. 10.12.2012; Опубл. 25.09.2013, Бюл. №18.]. Оскільки найбільшу активність мають водорозчинні β -глюкани, молекулярна маса яких варіює в інтервалі 1-30 кДа, було вибрано препарат, який містив максимальне накопичення фракцій з даною молекулярною масою та в структурі, якого присутня конформація потрібної спіралі [Черно, Н. К. Получение и характеристика водорастворимого глюкана *Saccharomyces cerevisiae* / Н. К. Черно, К. И. Шапкина // Известия ВУЗОВ, Пищевая Технология. - Вып. 4 (334). - Краснодар, 2013. - С. 29-32.]

Слід відмітити, що при одержанні комплексу необхідно використовувати тільки водорозчинний глюкан дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. При використанні нативного

(нерозчинного) β -глюкану створення комплексу неможливе, за рахунок того, що в структурі цього глюкану відсутня конформація потрібної спіралі.

Приклад 1.

5 Готували 1 % розчин водорозчинного глюкану й папаїну шляхом розчинення наважок у дистильованій воді. До розчину глюкану 100 см³ додавали при перемішуванні 100 см³ розчину папаїну. Суміш витримували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин. Комплекс висушували при температурі 50 °C до залишкової вологості 8 %, використовуючи конвекційне сушіння. Отримано 1,925 г комплексу. В отриманому комплексі співвідношення глюкану:папаїну 1:1 (на суху речовину). Протеолітичну активність (ПА) ферментної складової комплексу сягає 10 69,7 $\pm$ 2,6 від активності нативного ферменту (див. табл.).

pH оптимум вільного папаїну знаходиться біля 6 од. У результаті іммобілізації папаїну його pH-оптимум розширюється і знаходиться в інтервалі значень pH від 5 до 7. (фіг. 1).

Термооптимум вільного папаїну складає 37 °C, а іммобілізованого папаїну збільшився і складає 37-50 °C (фіг. 2).

15 При вивченні термостабільності ферменту, а саме при температурі 50 °C протягом 120 хв (фіг. 3), було встановлено, що при таких умовах 80 % активності вільного ферменту зберігається протягом 15 хв, а потім її значення поступово знижується і через 120 хв складає лише 20 %. На відміну від вільного, активність іммобілізованого ферменту за перші 30 хв зберігається майже на 100 % і тільки через 120 хв знижується всього на 25 %.

20 Для прогнозування поведінки іммобілізованого ферменту в травному тракті людини, досліджували вплив на його активність розчину, що моделює середовище шлункового соку (pH2, температура 37 °C (фіг.4)). Паралельно в аналогічних умовах визначали активність вільного папаїну. Доведено, що фермент у складі комплексу є більш стабільним у порівнянні з вільним. Дія кислотного середовища (pH2) протягом 180 хв призводить до втрати 70 % 25 активності вільного папаїну і тільки 40 % - іммобілізованого. Це свідчить, що комплекс проявляє пролонговану дію.

Крива 1 на фіг. 1, 2, 3, 4 - вільний фермент; крива 2 - фермент у складі комплексу.

Додатковим підтвердженням утворення комплексу глюкан-папаїн є результати дослідження отриманого продукту методами гель-хроматографії.

30 Згідно з результатами гель-хроматографії на сефадексі G-75 середня молекулярна маса глюкану знаходиться у межах 25-30 кДа, папаїну - біля 25 кДа. Вихідну криву гель-хроматографії іммобілізованого продукту представлено на фіг. 5 (Крива 1 - полісахаридна складова; 2 - білкова складова).

35 З представлених даних видно, що має місце повне суміщення піків полісахаридної та білкової складових, об'єм виходу яких відповідає значенню молекулярної маси біля 65 кДа, що є адитивною величиною значень молекулярних мас глюкану та папаїну. Наведені дані можна розглядати як свідчення утворення глюкан-папаїнового комплексу.

Приклади №№ 2-27. Здійснювали одержання глюкан-папаїнового комплексу аналогічно прикладу 1, але за різними умовами. Дані наведені в таблиці.

40 Слід відмітити, що збільшення концентрацій глюкану та папаїну у розчині не є економічно вигідним, а зменшення - не дає можливості одержання комплексу.

Одержаний таким способом комплекс, в якому є поєднання двох фізіологічно-функціональних складових - ферментної, що має протеолітичну активність, та полісахаридної (β -глюкан), з притаманними для неї різноплановими фізіологічними ефектами являє собою 45 харчовий інгредієнт з широким спектром біологічної дії.

Таблиця

Активність іммобілізованого ферменту в залежності від умов отримання

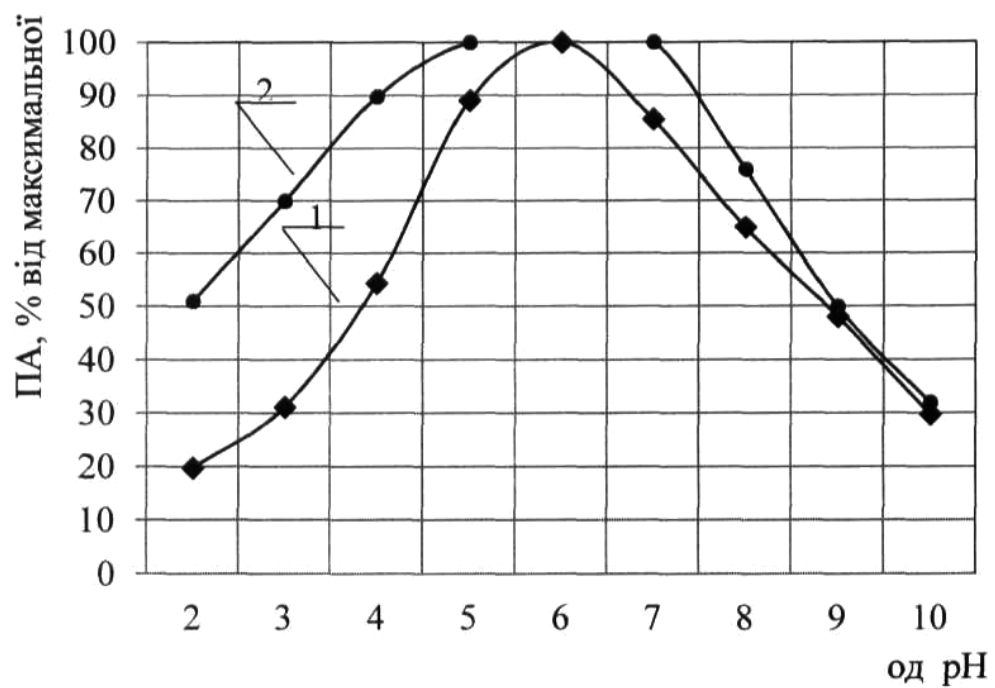
№ прикладу	Концентрація компоненту в розчині, %		Об'ємні співвідношення компонентів		Активність іммобілізованого ферменту, % від активності вільного ферменту
	папаїну 0,5-1,5	глюкану 0,5-1,0	Глюкану 1	папаїну 0,5-2,0	
1	0,5	1,00	1	0,5	40,6
2		0,75	1	0,5	29,4
3		0,50	1	0,5	30,8
4		1,00	1	1	32,4
5		0,75	1	1	33,5
6		0,50	1	1	32,4
7		1,00	1	2	32,3
8		0,75	1	2	36,5
9		0,50	1	2	29,1
10	1,0	1,00	1	0,5	42,7
11		0,75	1	0,5	44,2
12		0,50	1	0,5	52,0
13		1,00	1	1	69,7
14		0,75	1	1	61,2
15		0,50	1	1	60,3
16		1,00	1	2	30,9
17		0,75	1	2	32,9
18		0,50	1	2	37,7
19	1,5	1,00	1	0,5	52,4
20		0,75	1	0,5	43,4
21		0,50	1	0,5	50,1
22		1,00	1	1	52,7
23	1,5	0,75	1	1	54,3
24		0,50	1	1	57,3
25		1,00	1	2	49,5
26		0,75	1	2	49,4
27		0,50	1	2	50,1

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

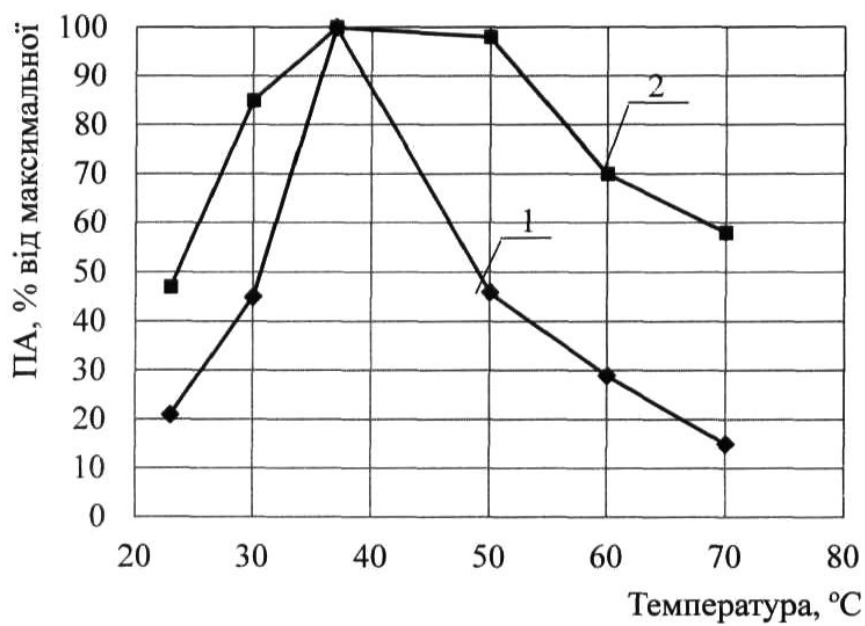
5

Спосіб одержання глюкан-папаїнового комплексу, який включає приготування водного розчину, що містить 0,5-1,5 мас. % папаїну, водного розчину, що містить 0,5-1,0 мас. % водорозчинного глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisia*, змішування приготовлених водних розчинів при їх співвідношенні (0,5-2,0):1 відповідно при кімнатній температурі, після чого суміш водних розчинів сушать при температурі не більш 50 °С до залишкової вологості не більш 8 %.

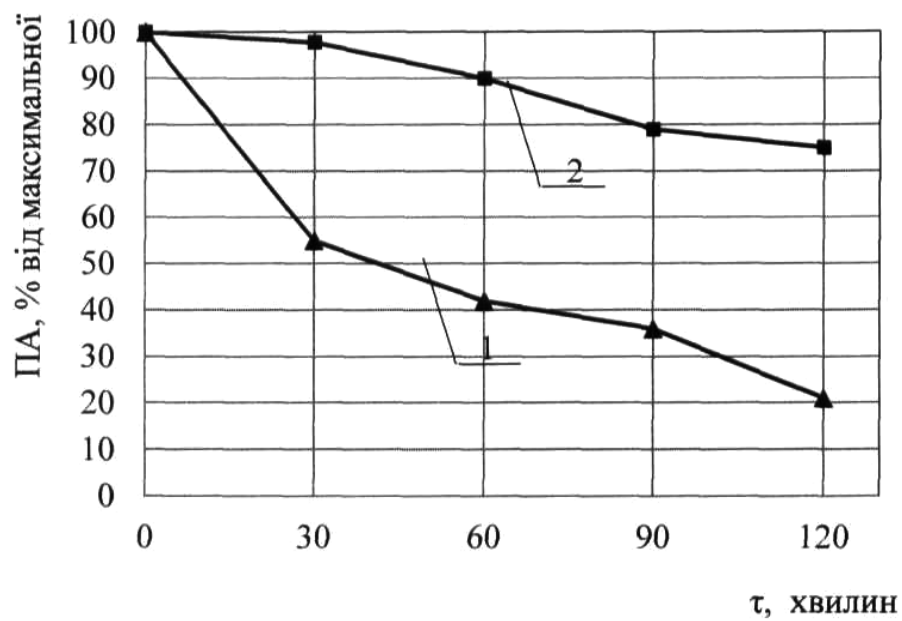
10



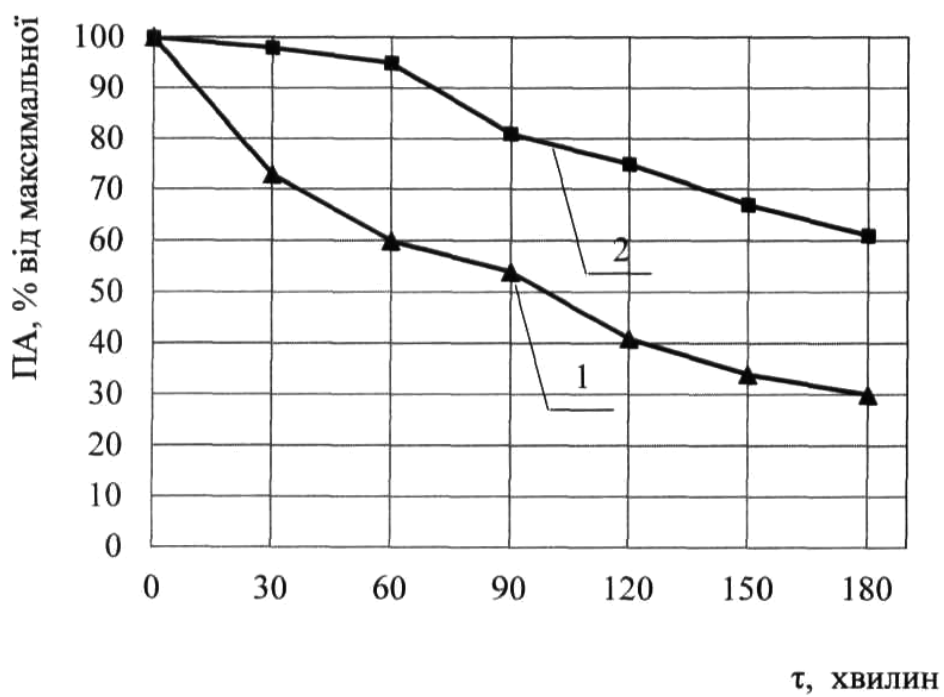
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

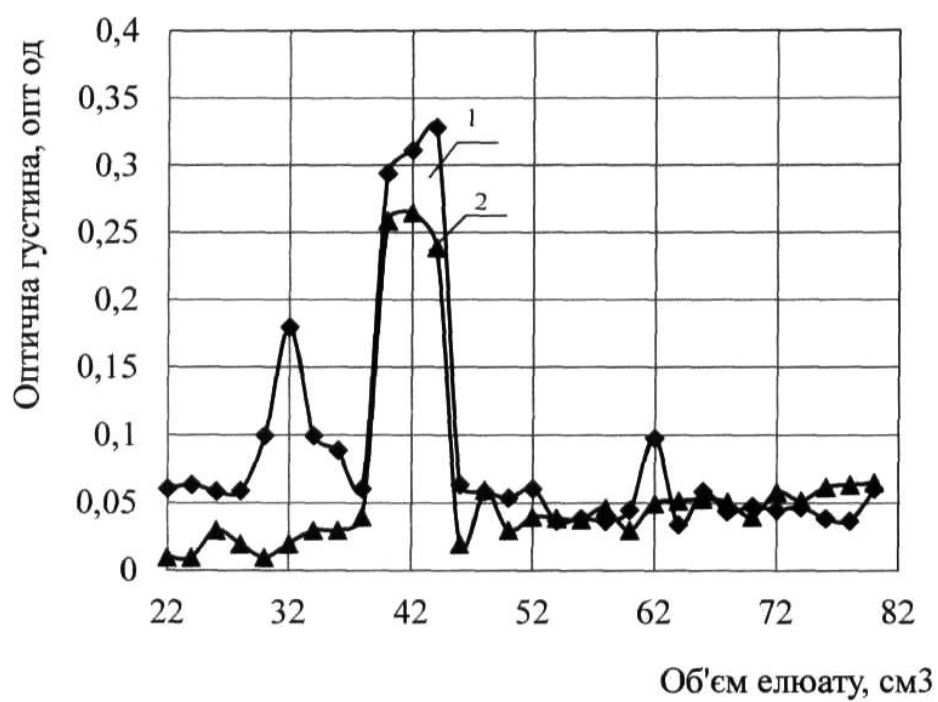


Fig. 5