



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107772** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A23K 10/00
B02C 7/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 11687	(72) Винахідник(и): Капельянец Леонід Вікторович (UA), Журлова Олена Дмитрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 26.11.2015	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 24.06.2016	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 24.06.2016, Бюл.№ 12	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРЕПАРАТУ КСИЛООЛІГОСАХАРИДІВ

(57) Реферат:

Спосіб одержання препарату ксилоолігосахаридів передбачає подрібнення сировини, ферментативний гідроліз, обробку етанолом і висушування. Ферментативний гідроліз пшеничних або житніх 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, супернатант відокремлюють від осаду, після чого супернатант обробляють 96 %-им етанолом, а осад, який утворився, відокремлюють і сушать до вмісту вологи 8 %.

UA 107772 U

Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до способу одержання препарату ксилоолігосахаридів (КОС) з пшеничних або житніх висівок.

Найближчим аналогом є спосіб одержання препарату КОС з рисового лушпиння (Патент CN 101381753 B). Спосіб здійснювали за такою схемою. Готували суспензію рисового лушпиння шляхом подрібнення та витримки у воді при 50 °С протягом 12 годин, фільтрували і фільтрат видаляли. Отриманий осад обробляли 2 %-им розчином NaOH при 60 °С у співвідношенні 1:50 протягом 24 годин. Суспензію центрифугували у присутності 40...60 % оцтової кислоти для зниження показника рН до 5...7. Осад видаляли центрифугуванням, а супернатант концентрували і осаджували 95 %-им етанолом у співвідношенні 1:(2...5) протягом 6...12 годин. Осад відділяли центрифугуванням та сушили для видалення етанолу. Висушений осад піддавали ферментативному гідролізу ксиланазою у 6 %-му водному розчині (9 г ферменту ксиланози розчиняли у 100 мл води) протягом 48 годин при 60 °С. Суміш нагрівали до 100 °С протягом 15 хв для інактивації ферменту, потім концентрували при зниженому тиску при 50 °С. Отриманий концентрат очищували шляхом адсорбції катіонними смолами при 20...40 °С протягом 12 годин (у співвідношенні 100 г розчину смол на 200 мл концентрату) із подальшим фільтруванням у присутності 40 %-го розчину етанолу. Фільтрат концентрували, піддавали діалізу протягом 48 годин та висушували у вакуумі при 60 °С протягом 15 годин. Отриманий порошок мав блідо-жовтий або білий колір із вмістом КОС 63 %.

Аналог і спосіб, що заявляється, мають спільні ознаки - подрібнення сировини, ферментативний гідроліз, обробка етанолом і висушування.

Недоліками цього способу є велика тривалість процесів обробки, використання додаткових операцій на очищення продукту, що призводять до його удорожчання при невисокому вмісті цільового компонента.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити ефективний спосіб одержання препарату КОС, в якому шляхом створення оптимальних умов екстрагування та очищення забезпечити більший вміст КОС у кінцевому продукті та скоротити тривалість процесів обробки.

Поставлена задача вирішена в способі одержання препарату ксилоолігосахаридів, що включає подрібнення сировини, ферментативний гідроліз, обробку етанолом і висушування, згідно з корисною моделлю, ферментативний гідроліз пшеничних або житніх 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., супернатант відокремлюють від осаду, після чого супернатант обробляють 96 %-им етанолом, а осад, який утворився відокремлюють і сушать до вмісту вологи 8 %.

Окрім того, ферментативний гідроліз проводять при гідромодулі 1:(8-12). Ферментативний гідроліз α -амілазою, глюкоамілазою і протеазою проводять при 50-55 °С, а ферментативний гідроліз препаратом Viscozyme L проводять при 45-50 °С.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Пшеничні або житні висівки подрібнюють на млині до розміру часток 0,75...1 мм, потім здійснюють 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 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 35...55 °С. Після цього суміш центрифугують при 6000 об./хв протягом 10 хв для відділення супернатанту від осаду. КОС в супернатанті осаджують 96 %-им етанолом у співвідношенні 1:(1...4). Далі суміш центрифугують при 8000 об./хв протягом 10 хв для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад висушують до вмісту вологи 8 %.

Одержаний препарат КОС являє собою дрібний порошок блідо-коричневого кольору і містить КОС - 65,4 % з пшеничних та 68 % з житніх висівок.

Приклади здійснення способу.

Приклад 1.

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 10 мл розчину глюкоамілази), 0,5 год. при 55 °С потім в суміш додають

0,005 % протеази (активність 70 АО/г, pH 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 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, pH 4) з гідромодулем 1:10 і проводять ферментативний гідроліз 4 год. при 50 °С. Після цього суміш центрифугують при 6000 об./хв протягом 10 хв при кімнатній температурі для відділення супернатанту від осаду. КОС в супернатанті осаджують 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 кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад висушують до вмісту води 8 %. Вміст КОС у препараті складав 654±0,05 мг.

Приклад 2.

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, pH5), 0,0006 % глюкоамілазою (активність 6000 АО/г, pH 5) з гідромодулем 1:10 (на 1 г висівок 10 мл розчину ферменту α -амілази 10 мл розчину глюкоамілази), 0,5 год. при 55 °С потім в суміш додають 0,005 % протеази (активність 70 АО/г, pH 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 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, pH 4) з гідромодулем 1:10 і проводять ферментативний гідроліз 4 год. при 50 °С. Після чого суміш центрифугують при 6000 об./хв протягом 10 хв при кімнатній температурі для відділення супернатанту від осаду. КОС в супернатанті осаджують 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 кімнатній температурі для відділення осаду від супернатанту. Отриманий осад висушують до вмісту води 8 %. Вміст КОС у препараті складав 680±0,05 мг.

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

Приклади 5, 6, 7 здійснюють аналогічно прикладу 2, але ферментативний гідроліз проводять при різних концентраціях ферментів та тривалості обробки розчинами 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 високий вміст КОС у препараті - 654 мг/г з пшеничних, 680 мг/г з житніх висівок за скорочений час обробки - 5 годин.

Таблиця 1

Вплив концентрації ферментів на вміст КОС у препараті з пшеничних висівок та час обробки

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
Загальна тривалість обробки ферментами, годин	5	7	3
Вміст КОС, мг	654±0,05	545±0,05	571±0,05

Таблиця 2

Вплив концентрації ферментів на вміст КОС у препараті з житніх висівок та час обробки

Концентрація ферментів, %	№ прикладу			
	2	5	6	7
α -амілази	0,001	0,0001	0,01	0,006
глюкоамілази	0,0006	0,0001	0,01	0,005
протеази	0,005	0,001	0,1	0,05
мультиферментного препарату Viscozyme L	0,001	0,0001	0,01	0,1
Загальна тривалість обробки ферментами, годин	5	7	3	4
Вміст КОС, мг	680 $\pm$ 0,05	567 $\pm$ 0,05	612 $\pm$ 0,05	650 $\pm$ 0,05

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 1. Спосіб одержання препарату ксилоолігосахаридів, що включає подрібнення сировини, ферментативний гідроліз, обробку етанолом і висушування, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз пшеничних або житніх 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,
- 10 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, супернатант відокремлюють від осаду, після чого супернатант обробляють 96 %-им етанолом, а осад, який утворився, відокремлюють і сушать до вмісту води 8 %.
- 15 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз проводять при гідромодулі 1:(8-12).
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз α -амілазою, глюкоамілазою і протеазою проводять при 50-55 °С.
- 20 4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз препаратом Viscozyme L проводять при 45-50 °С.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

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