



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45020 (13) U
(51) МПК (2009)
A23L 1/30
A23L 1/308

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) КОМПЛЕКСНА БІОЛОГІЧНО АКТИВНА ДОБАВКА

1

2

(21) u200904437

(22) 05.05.2009

(24) 26.10.2009

(46) 26.10.2009, Бюл.№ 20, 2009 р.

(72) ЧЕРНО НАТАЛЯ КИРИЛІВНА, КРУСІР ГАЛИ-
НА ВСЕВОЛОДІВНА, РУСЄВА ЯНА ПЕТРІВНА

(73) ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАР-
ЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Комплексна біологічно активна добавка, що містить водорозчинні харчові волокна полісахаридів, біорегулятор і компоненти насіння, яка **відрізняється** тим, що додатково вона містить нероз-

чинні харчові волокна і кверцитин, при цьому як біорегулятор вона містить інгібітор трипсину, а як компоненти насіння - компоненти насіння люцерни за наступним співвідношенням вказаних інгредієнтів, мас. %:

нерозчинні харчові волокна	60...70
водорозчинні харчові волокна	
полісахаридів	30...40
інгібітор трипсину	0,8...1,2
кверцитин	0,04...0,06
компоненти насіння люцерни	решта.

Корисна модель відноситься до біотехнології, зокрема до технології виробництва біологічно активної добавки (БАД), на основі водорозчинних полісахаридів.

Оскільки здоров'я населення України знаходиться у прямій залежності від харчування, розробка і використання вітчизняних біологічно активних добавок (БАД) є актуальною необхідністю.

Сьогодні препаратів і БАД, що регулюють ферментативну активність в організмі людини, недостатньо. Очевидна необхідність цих препаратів для населення у зв'язку з поширенням низки захворювань, пов'язаних з порушенням роботи ферментної системи організму. Тому важливо розробити нові препарати і БАД, що містять у своєму складі інгібітор трипсину. Інтерес до інгібіторів протеаз не випадковий і обумовлений, насамперед застосуванням його у терапії різних запальних процесів. Також вони виявляють антивірусну, антимікробну активність, мають протизапальну, антикоагуляційну та антиканцерогенну дію, для чого достатньо дуже малих кількостей інгібітору [див. Сыновец А.С. Ингибиторы протеолитических ферментов в медицине / А.С. Сыновец, А.П. Левицкий - 2-е изд., перераб. и доп. - К.: Здоровья, 1985. - 72 с]. Ефективним є застосування рослинних інгібіторів за умов стресового та алергічного стану.

В Україні такі добавки практично не виготовляють, але ресурси потенційного і дешевого джерела одержання рослинних інгібіторів протеаз до-

сить значні. Це пояснює необхідність пошуку в даному напрямку з метою створення нових БАД, що містять рослинні інгібітори трипсину.

Відома БАД на основі овочевих та зернових харчових волокон. Ця біологічно активна добавка містить такі компоненти, мас. %:

харчові волокна моркви	36,5...65,5
фермент солізим	0,3...2,4
харчові волокна пшеничних висівок	решта

[див. патент України № 31433 А. МПК А61К9/20, Біологічно активна добавка на основі рослинної сировини / Оpubл. 29.03.2000, Бюл. № 2].

Біологічно активну добавку готують в такий спосіб:

Харчові волокна пшеничних висівок додають до харчових волокон моркви (вологість 50%), перемішують і просочують ферментним розчином - солі-димом при рН 7,4; одержану суміш перемішують (n = 500об/хв) та сушать шаром 0,2...0,5мм при t = (38±2)°C протягом 1 години.

Харчові волокна одержували кислотним методом [див. Дудкин М. С. и др. Пищевые волокна.- Киев: Урожай,- 1988.- С. 13-18].

Фермент солізим було одержано за фармакопейною статтею ФС 42-2605288. Ліполітичну активність визначали в відповідності до ФС 42-2605288 як кількість розчину (см³) гідроксиду натрію (0,05М), який пішов на нейтралізацію вільних жирних кислот, які виділяються при гідролізі 40%-ної

(13) U
(11) 45020
(19) UA

емульсії оливкової олії при $t = 37^{\circ}\text{C}$ протягом 1 години. Ліполітичну активність іммобілізованого ферменту було виражено в процентному співвідношенні до вихідної активності.

Відома також біологічно активна добавка, що містить інгібітор панкреатичної амілази іммобілізований на полісахаридній матриці. Ця біологічно активна добавка містить компоненти борошенець вівса, як харчові волокна - розчинні харчові волокна полісахаридів, а як біорегулятор - інгібітор амілази, за наступним співвідношенням вказаних компонентів, мас. %:

водорозчинні харчові волокна	
полісахаридів	60...90
інгібітор амілази	1,0...3,0
компоненти борошенець вівса	решта
[див. патент України № 35892. МПК (2006) А 61 К 38/00 Біологічно активна добавка / Опубл. 10.10.2008, Бюл. № 19].	

Біологічно активну добавку готують в такий спосіб:

Інгібітор панкреатичної амілази виділяли з борошенець вівса, які попередньо знежирювали 10 об'ємами петролейного ефіру в апараті Сокслета. Екстракцію інгібітору панкреатичної амілази з борошенець вівса проводили в 0,1M бікарбонатним буфером, рН 9,2, який містив 0,15M NaCl (гідромодуль 5) при постійному перемішуванні на магнітній мішалці (число обертів 500об/хв.) при кімнатній температурі протягом 1 години. Осад відокремлювали від супернатанту за допомогою центрифугування при швидкості 8000 обертів за хвилину впродовж 20 хвилин. Супернатант нагрівали до температури 70°C впродовж 15 хвилин. В гарячий супернатант вводили полісахарид (ПС), перемішували впродовж 40 хвилин (500об/хв). Осад відділяли центрифугуванням (5000об/хв впродовж 10 хвилин) та сушили шаром 0,2...0,5мм при $t = (40 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ протягом 3 годин.

Дану біологічно активну добавку обрано найближчим аналогом. Найближчий аналог і корисна модель, що заявляється, мають такі спільні ознаки:

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

Біологічно активна добавка за найближчим аналогом має такий недолік: в якості біорегулятору використовують інгібітор панкреатичної амілази, який рекомендують приймати при порушеннях вуглеводного обміну в організмі людини, але вона не проявляє здатності сорбувати холеві кислоти та важкі метали.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити склад комплексної біологічно активної добавки, в якій шляхом заміни біорегулятора і компонентів насіння та поєднання їх з нерозчинними харчовими волокнами забезпечити розширення асортименту біологічно активних добавок.

Поставлена задача вирішена складом комплексної біологічно активної добавки, що містить біорегулятор, водорозчинні харчові волокна полісахаридів, і компоненти насіння тим, що згідно корисної моделі додатково містить нерозчинні харчові волокна та кверцитин, при цьому, як біорегу-

лятор вона містить інгібітор трипсину, а як компоненти насіння - компоненти насіння люцерни, за наступним співвідношенням вказаних інгредієнтів, мас. %:

нерозчинні харчові волокна	60...70
водорозчинні харчові волокна	
полісахаридів	30...40
інгібітор трипсину	0,8... 1,2
кверцитин	0,04...0,06
компоненти насіння люцерни	решта

В заявленій корисній моделі в якості біорегулятора вибрано інгібітор трипсину, тому що він діє на фермент трипсин, який в шлунково-кишковому тракті каталізує гідроліз харчових білків. Нестача або надлишок трипсину проявляються в порушенні травлення. Наявність трипсину в сировитці крові є тестом при діагностиці гострого панкреатиту. Порушення білкового обміну є причиною виникнення багатьох важких захворювань: панкреатити різної етнології, захворювання системи тромбування крові, кровоносної та серцево-судинної систем, клітин шкіри та інших органів, шоківий та алергічний стани та ін. В останні роки проблема профілактики і лікування вказаних захворювань набуває особливу актуальність.

В найближчому аналозі в якості джерела інгібітору амілази використовували побічний продукт переробки зерна вівса - борошенець вівса. В заявленій біологічно активній добавці (БАД) в якості джерела інгібітору трипсину використовується насіння люцерни, яке не перероблюється у харчовій промисловості, лише невелика кількість його використовується у сільському господарстві при вирощуванні рослин на корм великої рогатої худоби. Тому насіння люцерни є дешевим джерелом інгібітору трипсину. Додатково БАД містить нерозчинні харчові волокна та кверцитин. Джерелом нерозчинних харчових волокон є пшеничні висівки. Харчові волокна не перетравлюються в шлунково-кишковому тракті людини, здатні втримувати вологу та сорбувати важкі метали та холеві кислоти, позитивно впливають на перетравлювання їжі. Під дією харчових волокон подавляється ріст коліформ та створюються умови для розвитку лактобацил.

Масове співвідношення нерозчинних і водорозчинних харчових волокон та інгібітору трипсину підібрано відповідно добової дози кожного з компонентів комплексного БАД. Виконано підбір нерозчинних харчових волокон, які впливають на активність інгібітору трипсину (див. табл. №1). Комплексна БАД, яка містить нерозчинні харчові волокна, проявляє здатність до сорбції холевих кислот, які входять до складу жовчі, а також важких металів, зокрема свинцю. Дані наведені в табл. 2 та 3.

Біологічно активну добавку на основі харчових волокон, полісахаридів та інгібітору трипсину готували наступним чином: гомогенізоване насіння люцерни попередньо знежирювали 10-ма об'ємами петролейного ефіру в апараті Сокслета. Екстракцію інгібітору трипсину з насіння люцерни проводили 0,05M боратним буфером, рН 6,1 - 9,2, який містить 0,5M NaCl (гідромодуль 64) при постійному перемішуванні на магнітній мішалці (чис-

ло обертів 5000об/хв) при температурі 17,4°C протягом 10 хвилин. Осад відокремлювали від супернатанту за допомогою центрифугування при швидкості 8000 обертів за хвилину впродовж 20 хвилин. В супернатант вводили розчин полісахариду, перемішували впродовж 1 години (500об/хв). Після зв'язування інгібітору супернатанту з полісахаридами в нього вводили суміш харчових волокон та кверцитину. Осад відділяли центрифугуванням (5000об/хв впродовж 10 хвилин) та сушили шаром 0,2...0,5мм при $t = (40 \pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 3 годин.

В результаті одержали комплексну біологічно активну добавку на основі водорозчинних харчових волокон, яка містила, мас.% :

нерозчинні харчові волокна	60...70
водорозчинні харчові волокна	
полісахаридів	30...40
інгібітор трипсину	0,8...1,2
кверцитин	0,04...0,06
компоненти насіння люцерни	решта

Приклад 1. Гомогенізоване насіння люцерни попередньо знежирюють 10-ма об'ємами петролейного ефіру в апараті Сокслета. До 161,29г насіння додають 16,13л 0,1М боратного буферу, рН = 7,6, який містить 0,5М NaCl. Екстракцію проводять при постійному перемішуванні на магнітній мішалці (число обертів 5000об/хв) при температурі 17,4°C протягом 10 хвилин. Осад відокремлюють за допомогою центрифугування при швидкості 8000об/хв впродовж 20 хвилин. В супернатант вводили розчин полісахариду цитрусового пектину (0,4%), перемішували впродовж 1 години (500об/хв). Після зв'язування інгібітору супернатанту з полісахаридами в нього вводили суміш харчових волокон та антиоксиданту у співвідношенні: 64,52г харчових волокон та 0,05г кверцитину (ан-

тиоксидант). Осад відділяли центрифугуванням (5000об/хв впродовж 10 хвилин) та сушили шаром 0,2...0,5мм при $t = (40 \pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 3 годин. Маса осаду 100г.

Одержана біологічно активна добавка на основі водорозчинних харчових волокон (полісахаридів) містила, мас.% :

нерозчинні харчові волокна (ХВ)	64,52
водорозчинні харчові волокна	
полісахаридів (ПС)	32,26
інгібітор трипсину	1,03
кверцитин	0,05
компоненти насіння люцерни	2,14

Приклади 2-9. Здійснюють аналогічно прикладу 1, але в якості носіїв використовували різні нерозчинні харчові волокна. Отримані дані наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вміст пшеничних висівок в БАД базується на наступних експериментальних даних

№ прикладу	Харчові волокна	Активність інгібітору трипсину, %
1	Пшеничні висівки (ПВ)	76,06
2	Харчові волокна пшеничних висівок (ХВПВ)	51,35
3	Рисова лузга (РЛ)	50,68
4	Клетчатка пшениці (КП)	49,01
5	Борошенця вівса (БВ)	46,47
6	Лузга вівса (ЛВ)	46,32

Таблиця 2

Сорбція жовчних кислот комплексними БАД базується на наступних експериментальних даних

Жовчні кислоти	Зразок	Співвідношення комплекс з ПС-носій	Сорбція	
			мг/г БАД	% від вихідного
Холевая	ПВ		7,2	27,6
	ХВПВ		8,6	33,0
	РЛ		9,3	35,6
	КП		7,8	29,9
	БВ		8,5	32,6
	ЛВ		9,0	34,5
	БАД + ПС + ПВ	1:2	7,5	28,7
	БАД+ПС+ХВПВ	1:2	8,1	31,0
	БАД+ПС+РЛ	1:2	8,9	34,1
	БАД+ПС+КП	1:2	7,4	28,4
	БАД+ПС+БВ	1:2	7,9	30,3
	БАД+ПС+ЛВ	1:2	8,6	33,0

Продовження таблиці 2

Жовчні кислоти	Зразок	Співвідношення комплекс з ПС-носій	Сорбція	
			мг/г БАД	% від вихідного
Дехоксихолева	ПВ		6,3	24,1
	ХВПВ		7,4	28,4
	РЛ		8,7	33,3
	КП		6,7	25,7
	БВ		7,8	29,9
	ЛВ		8,4	32,2
	БАД+ПС+ПВ	1:2	6,7	25,7
	БАД + ПС + ХВПВ	1:2	7,2	27,6
	БАД+ПС+РЛ	1:2	8,4	32,2
	БАД+ПС+КП	1:2	6,1	23,4
	БАД + ПС + БВ	1:2	7,1	27,2
БАД + ПС + ЛВ	1:2	7,9	30,3	
Гликохолева	ПВ		5,1	19,5
	ХВПВ		5,7	21,8
	РЛ		6,5	24,9
	КП		4,7	18,0
	БВ		6,3	24,1
	ЛВ		6,9	26,4
	БАД+ПС+ПВ	1:2	5,6	21,5
	БАД+ПС+ХВПВ	1:2	5,4	20,7
	БАД+ПС+РЛ	1:2	6,1	23,4
	БАД+ПС+КП	1:2	4,2	16,1
	БАД+ПС+БВ	1:2	6,0	23,0
БАД + ПС + ЛВ	1:2	6,4	24,5	
Таурохолева	ПВ		3,2	12,3
	ХВПВ		3,6	13,8
	РЛ		3,9	14,9
	КП		2,9	11,1
	БВ		3,7	14,2
	ЛВ		4,3	16,5
	БАД + ПС + ПВ	1:2	3,5	13,4
	БАД + ПС + ХВПВ	1:2	3,5	13,4
	БАД+ПС+РЛ	1:2	3,7	14,2
	БАД+ПС+КП	1:2	2,5	9,6
БАД+ПС+БВ	1:2	3,4	13,0	
БАД + ПС + ЛВ	1:2	3,9	14,9	

Таблиця 3

Сорбція свинцю комплексними БАД базується на наступних експериментальних даних

№ прикладу	Харчові волокна	Вміст солей свинцю, мг/кг
1	Пшеничні висівки (ПВ)	0,2060
2	Харчові волокна пшеничних висівків (ХВПВ)	0,2103
3	Рисова лузга (РЛ)	0,2056
4	Клетчатка пшениці (КП)	0,1985
5	Борошенця вівса (БВ)	0,2041
6	Лузга вівса (ЛВ)	0,2115