



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **92651**

(13) **U**

(51) МПК

**A61K 35/06** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 03357**

(22) Дата подання заявки: **02.04.2014**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **26.08.2014**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **26.08.2014, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):

**Черно Наталія Кирилівна (UA),  
Озоліна Софія Олександрівна (UA),  
Нікітіна Олександра Валеріївна (UA)**

(73) Власник(и):

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

## (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДОБАВКИ

### (57) Реферат:

Спосіб одержання функціональної добавки полягає в тому, що попередньо висушену та подрібнену гливу звичайну обробляють 67-73 %-вим розчином етанолу при температурі 60-70 °С і гідромодулі 10 протягом 30-40 хвилин, періодично перемішуючи, відокремлений від супернатанту осад промивають 67-73 %-вим розчином етанолу, відділяють супернатант, одержані супернатанти змішують, видаляють етанол та висушують суспензію.

**UA 92651 U**



Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до способу одержання з гливи звичайної функціональної добавки, що проявляє антиоксидантні та біфідогенні властивості.

Відомий спосіб отримання етанольного екстракту з гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*) (див. Antioxidant properties in the oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) and split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) ethanolic extracts [Text] / Arbaayah H.H. and Umi Kalsom Y. // *Mycosphere*. - 2013. Vol. 4(4). - P. 661-673), який включає оброблення 10 г ліофільно висушених грибів 100 см<sup>3</sup> розчину етанолу при температурі 25 °С протягом 24 годин при перемішуванні. Отриману суспензію фільтрують через фільтрувальний папір Whatman № 1. Залишок обробляють двома додатковими порціями розчинів етанолу по 100 см<sup>3</sup> як описано вище. Далі спиртові екстракти об'єднують і концентрують при зниженому тиску при температурі нижче 40 °С для отримання неочищених екстрактів. Неочищений екстракт повторно розчиняють в етанолі для одержання розчинів з концентрацією сухих речовин 20 мг/см<sup>3</sup> і зберігають при температурі 4 °С.

Отриманий етанольний екстракт проявляє тільки антиоксидантні властивості.

Наведений спосіб має ряд недоліків:

- за цих умов не екстрагуються низькомолекулярні вуглеводи;
- ступінь вилучення фенольних речовин складає 83,4 %;
- надто тривалий процес екстракції.

Відомий спосіб одержання імуностимулюючого глюкану з гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*) (див. міжнародну заявку WO 02/085950), який включає оброблення 20 кг подрібнених ніжок гливи 40 дм<sup>3</sup> 0,05-0,15 %-ого розчину карбонату натрію або калію протягом 1-8 хвилин. Далі суспензію фільтрують, промивають водою. До отриманого осаду додають 200 см<sup>3</sup> води, 80 г NaOH та ретельно перемішують. Після цього реакційну суміш обробляють 2 дм<sup>3</sup> 30 %-ого розчину гідроген пероксиду при температурі 15-25 °С протягом 15-24 годин, постійно перемішуючи. Потім суміш промивають питною водою до нейтрального значення pH середовища. До фільтрату додають 5 дм<sup>3</sup> питної води, яка містить 20 см<sup>3</sup> оцтової кислоти, перемішують та знову промивають 10 дм<sup>3</sup> питної води. Отриману суспензію пропускають через гідравлічний прес, обробляють 20 дм<sup>3</sup> концентрованого розчину етанолу протягом 1 години та фільтрують. Обробку етанолом повторюють двічі. Отриманий препарат сушать при температурі 60 °С та подрібнюють до розміру часток d=500 мкм. Препарат містить 70,0 % глюкану, 0,6 % нітрогену хітину та 1,5 % золи.

Однак даний препарат проявляє тільки імуномодельючі властивості.

З науково-технічної та патентної літератури заявнику невідомі способи одержання добавок з гливи звичайної, що проявляли б одразу дві властивості: біфідогенні та антиоксидантні.

У зв'язку з цим, жоден із відомих способів не може бути вибраний прототипом, а критика кожного окремого способу в описі одержання функціональної добавки буде некоректною.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб одержання функціональної добавки, в якому шляхом введення нових операцій та зміни режимів виконання відомих забезпечити одержання функціональної добавки, що здатна стимулювати ріст біфідобактерій і проявляти антиоксидантні властивості.

Поставлену задачу вирішують в способі одержання функціональної добавки, який полягає в тому, що попередньо висушену та подрібнену гливу звичайну обробляють 67-73 %-вим розчином етанолу при температурі 60-70 °С і гідромодулі 10 протягом 30-40 хвилин, періодично перемішуючи, відокремлений від супернатанту осад промивають 67-73 %-вим розчином етанолу, відділяють супернатант, одержані супернатанти змішують, видаляють етанол та висушують суспензію.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Попередньо висушену та подрібнену гливу звичайну обробляють 67-73 %-вим розчином етанолу при температурі 60-70 °С протягом 30-40 хвилин і гідромодулі 10 періодично перемішуючи, одержану суміш центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад промивають 67-73 %-вим розчином етанолу і центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин. Одержані таким чином супернатанти об'єднують і видаляють з них етанол перегонкою, отриману суспензію висушують. Одержана функціональна добавка являє собою дрібний порошок світло-коричневого кольору.

Приклади здійснення способу.

Приклад № 1

100 г попередньо висушеної та подрібненої гливи звичайної обробляють 67 %-вим розчином етанолу при температурі 60 °С протягом 40 хвилин і гідромодулі 10, періодично перемішуючи, одержану суміш центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад промивають 67 %-вим розчином етанолу і центрифугують при 3000 об/хв.

15 хвилин. Одержані таким чином супернатанти об'єднують і видаляють з них етанол перегонкою, отриману суспензію висушують. Одержана функціональна добавка являє собою дрібний порошок світло-коричневого кольору. Вихід складає 21,4 г (21,4 %).

#### Приклад № 2

5 100 г попередньо висушеної та подрібненої гливи звичайної обробляють 67 %-вим розчином етанолу при температурі 70 °С протягом 30 хвилин і гідромодулі 10, періодично перемішуючи, одержану суміш центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад промивають 67 %-вим розчином етанолу і центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин. Одержані таким чином супернатанти об'єднують і видаляють з них етанол перегонкою, отриману суспензію висушують. Одержана функціональна добавка представляє собою дрібний порошок світло-коричневого кольору. Вихід складає 21,4 г (21,4 %).

#### Приклад № 3

15 100 г попередньо висушеної та подрібненої гливи звичайної обробляють 70 %-вим розчином етанолу при температурі 65 °С протягом 35 хвилин і гідромодулі 10, періодично перемішуючи, одержану суміш центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад промивають 70 %-вим розчином етанолу і центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин. Одержані таким чином супернатанти об'єднують і видаляють з них етанол перегонкою, отриману суспензію висушують. Одержана функціональна добавка являє собою дрібний порошок світло-коричневого кольору. Вихід складає 21,3 г (21,3 %).

#### Приклад № 4

20 100 г попередньо висушеної та подрібненої гливи звичайної обробляють 73 %-вим розчином етанолу при температурі 60 °С протягом 40 хвилин і гідромодулі 10, періодично перемішуючи, одержану суміш центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад промивають 73 %-вим розчином етанолу і центрифугують при 3000 об/хв. 25 15 хвилин. Одержані таким чином супернатанти об'єднують і видаляють з них етанол перегонкою, отриману суспензію висушують. Одержана функціональна добавка являє собою дрібний порошок світло-коричневого кольору. Вихід складає 21,1 г (21,1 %).

#### Приклад № 5

30 100 г попередньо висушеної та подрібненої гливи звичайної обробляють 73 %-вим розчином етанолу при температурі 70 °С протягом 30 хвилин і гідромодулі 10 періодично перемішуючи, одержану суміш центрифугують при 3000 об/хв. 15 хвилин для відділення осаду від супернатанту. Осад промивають 73 %-вим розчином етанолу і центрифугують при 3000 об/хв. 35 15 хвилин. Одержані таким чином супернатанти об'єднують і видаляють з них етанол перегонкою, отриману суспензію висушують. Одержана функціональна добавка являє собою дрібний порошок світло-коричневого кольору. Вихід складає 21,2 г (21,2 %).

Хімічний склад функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, наведено у таблиці 1. Біфідогенний ефект функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, наведено у таблиці 2. Антиоксидантну активність функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, наведено у таблиці 3.

40 Умови екстракції спирторозчинних речовин підбирали експериментально. Максимальний вміст спирторозчинних речовин у складі гливи звичайної визначали, проводячи вичерпну екстракцію.

Встановлено, що при обробці гливи звичайної 96 %-вим розчином етанолу вихід спирторозчинних речовин сягає 46,5 % від їх загального вмісту. Це пояснюється тим, що за таких умов не відбувається екстракція низькомолекулярних вуглеводів. Тому застосування розчину етанолу такої концентрації не є доцільним.

Встановлено, що після 30 хвилин експозиції гливи звичайної у 80 %-вому розчині етанолу при температурі кипіння ступінь вилучення екстрактивних речовин сягає 96,0 % від їх загального вмісту. При подовженні тривалості обробки до 45 хв. спостерігається їх вичерпна екстракція (99,2 %).

При дії на гливу звичайну більш розведеного (70 %-вого) розчину етанолу протягом 30 хвилин при температурі кипіння вихід спирторозчинних речовин майже не змінюється і становить 95,0 %. Після 45 хвилин експозиції ступінь вилучення спирторозчинних речовин з гливи звичайної досягає тих же значень, що й при використанні 80 %-вого реагенту.

55 Екстракція 60 %-вим розчином етанолом супроводжується вилученням більшої кількості сухих речовин з гливи звичайної, але їх маса перевищує загальний вміст власне спирторозчинних речовин у сировині за рахунок часткового переходу до складу екстрактів водорозчинних компонентів. Тому застосування 60 %-вого екстрагенту не є доцільним.

60 Таким чином, при використанні 70 %- та 80 %-вого розчинів етанолу при температурі кипіння ступінь вилучення екстрактивних речовин суттєво не відрізняється між собою. Проте з

економічної точки зору більш раціонально вилучати спирторозчинні речовини з гливи звичайної 70 %-вим розчином етанолу.

Для встановлення можливості застосування більш низьких температур для виділення спирторозчинних речовин сировину обробляли 70 %-вим розчином етанолу при температурі 60 та 70 °С. За таких умов вихід екстрактивних речовин наближається до максимального значення після 30-40 хвилин екстракції.

Саме такі режими екстракції спирторозчинних речовин були вибрані для виділення функціональних добавок.

Встановлено, що за виходом функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, суттєво не відрізняються між собою. Цей показник варіює в межах 94,2-95,7 % від максимальної кількості спирторозчинних речовин.

З рівня техніки заявнику невідомі способи одержання функціональних добавок з гливи звичайної, які проявляли б одразу і біфідогенні властивості, і антиоксидантні.

Спосіб одержання функціональної добавки, що заявляється, дозволяє одержати добавку, яка проявляє одразу антиоксидантні та біфідогенні властивості.

Це пояснюється наступним.

У складі функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, ідентифіковано: низькомолекулярні вуглеводи, представлені переважно трегалозою, цукроспирт маніт, а також нітрогеновмісні і фенольні речовини.

Функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, інтенсифікують метаболічні процеси у мікроорганізмів, зокрема біфідобактерій, які відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу організму. При їх додаванні до молока у кількості 2 % тривалість його ферментації скорочувалась у 1,7 рази у порівнянні зі традиційним способом сквашування та практично дорівнювала такій при використанні як біфідогенного фактора 2 %-вого розчину фруктози - моносахариду, який біфідобактерії активно зброджують (13,5 та 13,0 год. відповідно).

Введення до молока функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, як біфідогенних факторів сприяє отриманню ферментованих згустків, в яких кількість життєздатних клітин біфідобактерій у 1,2-1,4 раз перевищує таку в згустках, отриманих при збродженні молока з використанням фруктози, та у 16,3-18,8 раз більше у порівнянні з традиційним способом (таблиця 2). При цьому у всіх зразках бактерії мають форму прямих чітких паличок, які наявні у вигляді поодиноких і парних клітин.

Функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, характеризуються високою антиоксидантною активністю. Так, антиоксидантна активність функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, у 1,4 рази перевершує антиоксидантну активність кверцетину за умов однакової їх кількості у складі реакційної суміші. Однак, при концентрації функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, 15 мг/см значення цього показника практично не відрізняється від антиоксидантної активності відомого антиокислювача - аскорбінової кислоти при її концентрації 10 мг/см<sup>3</sup> (97,0-99,2 % та 99,6 % відповідно).

Вплив функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, на процеси вільнорадикального окиснення в живому організмі контролювали за накопиченням малонового діальдегіду. Він разом з іншими продуктами перекисного окиснення ліпідів призводять до порушення структурно-функціональних властивостей клітинних мембран та зниження їх стійкості до дії пероксидних сполук. Внаслідок цього розвивається ціла низка патологічних процесів, які призводять до виникнення різноманітних хвороб та передчасного старіння організму.

Для активізації перекисного окиснення ліпідів щурам-самцям перорально вводили ацетат свинцю в кількості 14,1 мг/кг. Добова доза функціональної добавки складала 50 мг/кг. Тварин утримували на стандартному раціоні з вільним доступом до води та їжі згідно з вимогами, викладеними в книзі "Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах" // В.П. Пішак, В.Г. Висоцька, В.М. Магальс та ін. - Чернівці: Мед. університет, 2006. - 350 с.

Тварини були розділені наступним чином: 1 група - контрольна, що отримувала загальний раціон харчування; 2 група - тварини, що отримували ацетат свинцю; 3 група - тварини, що отримували функціональну добавку, одержану за способом, що заявляється, і ацетат свинцю.

Встановлено, що вміст малонового діальдегіду в крові тварин контрольної групи складав 0,21 нмоль/г тканини, тварин другої групи, що отримували ацетат свинцю, - 0,28 нмоль/г тканини, а тварин третьої групи, що одночасно отримували ацетат свинцю та функціональну добавку, одержану за способом, що заявляється, - 0,22 нмоль/г тканини. Отже, в присутності функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, вміст малонового діальдегіду зменшився на 21,4 % у порівнянні з групою, експонованою ацетатом свинцю та наближався до контрольної групи.

Встановлено, що функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, також здатні інгібувати перекисне окиснення ліпідів, яке викликає руйнацію життєво важливих для організму людини есенціальних жирних кислот та накопичення шкідливих продуктів окиснення. В зв'язку з цим, введення функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, до складу продуктів харчування з високим вмістом жирів дозволить попередити зниження їх біологічної цінності та погіршення органолептичних показників. Це дасть змогу виробляти продукти харчування з пролонгованими термінами зберігання.

Таким чином, функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, можуть бути використані як біфідогенні фактори при ферментації молока чистими культурами біфідобактерій та антиоксиданти, що одночасно запобігають накопиченню перекисних радикалів в живому організмі та подовжують терміни зберігання продуктів харчування з високим вмістом жиру.

Ефективність функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, було підтверджено при виготовленні біо-йогурту, біо-кефіру та вершкового масла геродієтичного призначення.

Біо-йогурт готували, згідно з ТУ У 25027034-012-99, при наступному співвідношенні вказаних компонентів, мас. %:

функціональна добавка	0,75
симбіотична закваска	0,0020
нормалізована	
гомогенізована	
пастеризована молочна	
суміш з масовою часткою	
сухого знежиреного	
молочного залишку 10-12 %	решта.

Функціональну добавку вводили до стадії нормалізації незбираного коров'ячого молока.

Внесення функціональної добавки дозволило зменшити тривалість сквашування з 8 до 6 год., при цьому кількість життєздатних клітин молочнокислих бактерій на кінець терміну придатності збільшилася з  $1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> до  $5 \times 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>. Отриманий продукт за фізико-хімічними, органолептичними, мікробіологічними та пробіотичними показниками відповідав вимогам до кисломолочних напоїв з підвищеними функціональними властивостями.

Біо-кефір готували, згідно з ТУ У 25027034-011-99, при наступному співвідношенні вказаних компонентів, мас. %:

функціональна добавка	0,75
симбіотична закваска	0,0020
нормалізована	
гомогенізоване	
пастеризоване коров'яче	
молоко	решта.

Функціональну добавку вводили до стадії нормалізації незбираного коров'ячого молока.

Внесення функціональної добавки дозволило зменшити тривалість сквашування з 8 до 6 год., при цьому кількість життєздатних клітин молочнокислих бактерій на кінець терміну придатності збільшилося з  $1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> до  $2 \times 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>. Отриманий продукт за фізико-хімічними, органолептичними, мікробіологічними та пробіотичними показниками відповідав вимогам до кисломолочних напоїв з підвищеними функціональними властивостями.

Вершкове масло готували, згідно з ДСТУ 4399:2005, при наступному співвідношенні вказаних компонентів, мас. %:

функціональна добавка	0,95
вершки з коров'ячого молока	решта.

Функціональну добавку вводили до стадії збивання вершків.

При додаванні функціональної добавки до вершкового масла його термін зберігання збільшився з 35 до 45 діб.

Отже, з наведених даних видно, що функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, є ефективними біфідогенними факторами, застосування яких при виготовленні молочних продуктів дозволяє не тільки інтенсифікувати процес їх виробництва, але й підвищити вміст життєздатних клітин молочнокислих бактерій на кінець строку придатності у складі кінцевого продукту в порівнянні з такими, що виготовляють за традиційною технологією. До того ж функціональні добавки, одержані за прикладами 1-5, проявляють також високу антиоксидантну активність. Завдяки цьому при виготовленні харчових продуктів їх можна використовувати за двома напрямками:

- для виробництва функціональних продуктів харчування геродієтичного призначення;

- для виробництва продуктів харчування з високим вмістом жиру з пролонгованими термінами зберігання.

Таблиця 1

Хімічний склад функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5

Показник, % від сухих речовин	№ прикладу				
	1	2	3	4	5
Маніт	27,0	26,7	26,5	25,8	26,3
Низькомолекулярні вуглеводи	60,4	60,6	59,6	60,2	59,9
Нітрогеновмісні органічні сполуки	9,2	9,1	9,0	8,9	8,8
Речовини фенольної природи	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7

Таблиця 2

Вплив функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5, на ріст біфідобактерій

Біфідогенний фактор	КУО/см <sup>3</sup>
Функціональна добавка, одержана за прикладом 1	$1,3 \times 10^{12}$
Функціональна добавка, одержана за прикладом 2	$1,4 \times 10^{12}$
Функціональна добавка, одержана за прикладом 3	$1,4 \times 10^{12}$
Функціональна добавка, одержана за прикладом 4	$1,5 \times 10^{12}$
Функціональна добавка, одержана за прикладом 5	$1,3 \times 10^{12}$
Фруктоза	$1,1 \times 10^{12}$
Молоко без додавання біфідогенних факторів	$0,8 \times 10^{11}$

5

Таблиця 3

Антиоксидантна активність функціональних добавок, одержаних за прикладами 1-5

Показник	№ прикладу				
	1	2	3	4	5
Антиоксидантна активність, %	98,9	99,2	98,1	97,0	97,8

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 Спосіб одержання функціональної добавки, який полягає в тому, що попередньо висушену та подрібнену гливу звичайну обробляють 67-73 %-вим розчином етанолу при температурі 60-70 °С і гідромодулі 10 протягом 30-40 хвилин, періодично перемішуючи, відокремлений від супернатанту осад промивають 67-73 %-вим розчином етанолу, відділяють супернатант, одержані супернатанти змішують, видаляють етанол та висушують суспензію.

---

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