



(51) МПК

A23L 1/333 (2006.01)*A23L 1/30* (2006.01)*A23L 1/304* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005107886/13, 21.03.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.03.2005

(45) Опубликовано: 10.11.2006 Бюл. № 31

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2231272 C2, 27.06.2004. RU 2080865
C1, 10.06.1997. JP 59-140834, 13.08.1984. RU
2161888 C1, 20.01.2001.

Адрес для переписки:

690022, г.Владивосток, пр-кт 100 лет
Владивостока, 159, Тихоокеанский институт
биоорганической химии ДВО РАН, зав.
патентным отделом Н.И. Стадниченко

(72) Автор(ы):

Руцкова Татьяна Анатольевна (RU),
Кофанова Нина Николаевна (RU),
Козловская Эмма Павловна (RU),
Глазунов Валерий Петрович (RU),
Артюков Александр Алексеевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

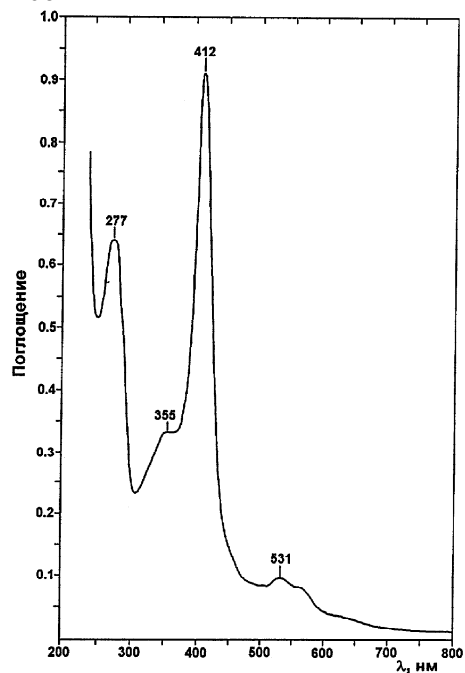
Тихоокеанский институт биоорганической химии
Дальневосточного отделения Российской
академии наук (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩЕЙ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области производства биологически активных добавок к пище, которые могут быть использованы для профилактики железодефицитных состояний человека. Способ получения железосодержащей биологически активной пищевой добавки заключается в том, что гемолимфу анадары (*Anadara broughtoni*) замораживают, дефростируют, центрифугируют, фильтруют на мембране с размером пор 0,2 мкм. Далее концентрируют и отмывают от посторонних примесей водой на ультрафильтрационной установке с мембраной, пропускающей глобулярные белки с молекулярной массой 300 кДа и ниже, с получением оксигемоглобина. Затем к оксигемоглобину добавляют протеолитический фермент в соотношении оксигемоглобин : фермент 100:1-2. Смесь инкубируют в течение 4-5 часов при температуре 29-39°C. Полученный гемопротеин отмывают дистиллированной водой от низкомолекулярных продуктов гидролиза и концентрируют на ультрафильтрационной установке с мембраной на 30 кДа. Изобретение позволяет получить биологически активную пищевую добавку гемопротеиновой природы, содержащую двухвалентное железо в количестве 3-5% от массы сухого вещества, что в 15-20 раз

выше по сравнению с содержанием железа в добавке, полученной из крови сельскохозяйственных животных. 2 з.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл.





FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A23L 1/333 (2006.01)**A23L 1/30** (2006.01)**A23L 1/304** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2005107886/13, 21.03.2005**(24) Effective date for property rights: **21.03.2005**(45) Date of publication: **10.11.2006 Bull. 31**

Mail address:

**690022, g.Vladivostok, pr-kt 100 let
Vladivostoka, 159, Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii DVO RAN, zav.
patentnym otdelom N.I. Stadnichenko**

(72) Inventor(s):

**Rutskova Tat'jana Anatol'evna (RU),
Kofanova Nina Nikolaevna (RU),
Kozlovskaja Ehmma Pavlovna (RU),
Glazunov Valerij Petrovich (RU),
Artjukov Aleksandr Alekseevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Tikhookeanskij institut bioorganicheskoj
khimii Dal'nevostochnogo otdelenija
Rossijskoj akademii nauk (RU)**

(54) **METHOD FOR PRODUCTION OF IRON-CONTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE FOOD SUPPLEMENT**

(57) Abstract:

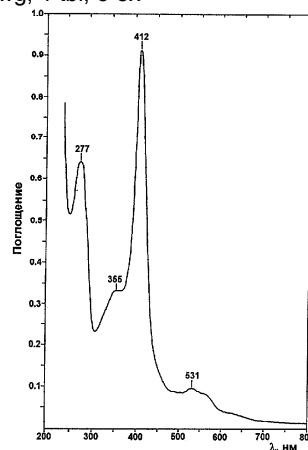
FIELD: production of iron-containing biologically active food supplement useful in prophylaxis of iron-deficit condition in human.

SUBSTANCE: claimed method includes Andara broughtoni haemolymph frosting, defrosting, centrifugation, filtering on membrane with pore size of 0.2 μm . Further obtained product is concentrated and washed from contaminants with water in ultrafiltration apparatus with membrane, passing globular proteins with molar mass of 300 kDa or less to produce oxyhaemoglobin. Then proteolytic enzyme is added to oxyhaemoglobin in oxyhaemoglobin/enzyme ratio of 100:1-2. Mixture is incubated for 4-5 h at 29-30°C. Obtained haemoprotein is washed with distilled water to remove low molecular hydrolysis products and concentrated in ultrafiltration apparatus with membrane of 30 kDa. Claimed food supplement contains bivalent iron in amount of 3-5 % based

on dry material mass that is higher by 15-20 times in contrast to supplement obtained from animal blood.

EFFECT: bioactive food supplement with sufficiently increased bivalent iron content.

2 cl, 1 dwg, 1 tbl, 3 ex



Изобретение относится к области производства биологически активных добавок к пище, которые могут быть использованы для профилактики железодефицитных состояний человека.

По данным Всемирной организации здравоохранения, железодефицитной анемией (ЖДА) страдают 2 миллиарда человек в мире. Скрытый дефицит железа (предстадия ЖДА) у жителей Европы и России составляет 30%. ЖДА возникает при уменьшении количества гемоглобина крови по сравнению с физиологической нормой из-за недостаточности поступления железа с пищей.

Известно, что кровь крупного рогатого скота является ценным источником железосодержащих белков для фармацевтической промышленности.

Известен способ очистки гемоглобина из сырого раствора крови путем ионообменной хроматографии [RU 2145873 C1, 27.02.2000]. Данный способ получения гемоглобина является трудоемким и достаточно сложным.

Существует способ выделения гемоглобина, используемого в качестве пищевой добавки, из крови сельскохозяйственных животных посредством получения гемолизата эритроцитов путем разбавления эритроцитарной массы дистиллированной водой и замораживания с последующим концентрированием гемолизата ультрафильтрацией, стерилизующей фильтрацией и лиофилизацией [RU 2080865 C1, 10.06.1997]. Данный способ многоэтапен, требует значительных затрат и не позволяет производить гемоглобин, не содержащий патогенных вирусных частиц, без дополнительных стадий очистки.

Биологически активная добавка, представляющая собой порошкообразный состав, включающая очищенный гемоглобин крови крупного рогатого скота, содержит железо в гемовой форме в количестве $0,3 \pm 0,05\%$ от массы содержащегося в добавке гемоглобина и используется при изготовлении конфет [RU 2161888 C1, 20.01.2001].

В настоящее время ведутся поиски альтернативных источников гемопротеидов, филогенетически удаленных от млекопитающих и не подверженных опасным для человека вирусным заболеваниям.

Известен способ комплексной переработки анадары "Anadara broughtoni", при которой в качестве сырья для получения биологически активной пищевой добавки используют гемолимфу. Гемолимфу, отобранную при разделке из анадары, замораживают или сушат, при этом для предупреждения коагуляции белков смешивают с этиловым спиртом в соотношении 2:1 и высушивают методом сублимации. Высушенный порошок используют как биологически активную добавку к пище либо как сырье для выделения БАД к пище - гепарина, препятствующего свертыванию крови и образованию тромбов [RU 2231272 C2, 27.06.2004].

Этот способ предполагает использование органического растворителя для стабилизации экстрактивных веществ и сублимационную сушку спиртового раствора, что не позволяет выделять один из активных компонентов гемолимфы - гемосодержащий белок в хроматографически чистом виде.

Задача изобретения - разработка способа получения железосодержащей биологически активной пищевой добавки с использованием нетрадиционного источника данного вещества.

Для этого гемосодержащий продукт выделяют из гемолимфы промыслового моллюска Anadara broughtoni, остающейся в процессе промышленной переработки и содержащей большое количество дыхательных пигментов.

Гемолимфу замораживают (для проведения гемолиза клеточных структур и удобства транспортировки, хранения), дефростируют, центрифугируют, фильтруют на мембране с размером пор 0,2 мкм, концентрируют и отмывают от посторонних примесей водой на ультрафильтрационной установке с мембраной, пропускающей глобулярные белки с молекулярной массой 300 кДа и ниже с получением оксигемоглобина. По данным атомно-адсорбционного спектрального анализа препарат содержит 0,2% железа.

Затем к оксигемоглобину добавляют протеолитический фермент в соотношении

оксигемоглобин : фермент 100:1-2, смесь инкубируют в течение 4-5 часов при температуре 29-39°C. Полученный гемопротеин отмывают дистиллированной водой от низкомолекулярных продуктов гидролиза и концентрируют на ультрафильтрационной установке с мембраной на 30 кДа. Получают биологически активную пищевую добавку гемопротеиновой природы, содержащую двухвалентное железо в количестве 3-5% от массы сухого вещества.

В качестве протеолитического фермента используют комплекс протеиназ камчатского краба, или папаин, или пепсин.

С целью увеличения сроков хранения целевой продукт лиофильно высушивают.

Существуют данные о лучшей усвояемости двухвалентного железа в присутствии аскорбиновой кислоты [Annals N.Y. Academy of Sciences Vol.355, p.32-44. (1980)]. Поэтому при применении к целевому продукту целесообразно добавлять аскорбиновую кислоту (0,05 мг/мл).

Технический результат, обеспечиваемый изобретением, заключается в получении железосодержащей биологически активной пищевой добавки, в которой содержание железа в 15-20 раз выше по сравнению с содержанием железа в добавке, полученной из крови сельскохозяйственных животных.

Использование в качестве источника геминового железа - моллюска *A. broughtoni*, филогенетически удаленного от млекопитающих и не подверженного опасным для человека вирусным заболеваниям, позволяет производить железосодержащую биологически активную пищевую добавку, не содержащую патогенных вирусных частиц, без дополнительных стадий очистки в отличие от получения таковой из крови сельскохозяйственных животных.

Технический результат заключается также в расширении сырьевой базы для получения железосодержащей биологически активной пищевой добавки, а также в расширении арсенала железосодержащих биологически активных добавок к пище.

Заявляемый способ основан на современных мембранных технологиях, не требует значительных материальных затрат, так как в качестве сырья используют побочный продукт промышленной переработки промыслового моллюска *A. broughtoni*.

На чертеже представлен спектр поглощения оксигемоглобина, полученного из гемолимфы *A. broughtoni*.

Осуществление изобретения.

Пример 1.

1,0 л гемолимфы анадары подвергают заморозке, дефростируют, центрифугируют до полного удаления клеточного материала, стерилизуют посредством фильтрации на мембране с размером пор 0,2 мкм, концентрируют ультрафильтрационным способом на установке с мембраной, пропускающей глобулярные белки с молекулярной массой 300 кДа и ниже. Сконцентрированный оксигемоглобин отмывают от посторонних примесей дистиллированной водой при тех же условиях ультрафильтрации. К полученному продукту V=0,2 л (3,0 г сухого вещества) добавляют комплекс протеиназ камчатского краба V=5,0 мл (45,0 мг, активность 1,3 ед/мг), инкубируют 4 часа и при температуре 37°C, pH 8. Далее полученный в результате ферментативного гидролиза гемопротеин отмывают дистиллированной водой от низкомолекулярных продуктов гидролиза и концентрируют на ультрафильтрационной установке с мембраной на 30 кДа. Целевой продукт (V=50,0 мл, 108,0 мг) содержит железо в количестве 5,0% в расчете на сухое вещество.

Пример 2.

Способ осуществляют, как описано в примере 1, но в качестве фермента используют папаин. Целевой продукт (V=50,0 мл, 190,0 мг) содержит железо в количестве 3,0% в расчете на сухое вещество.

Пример 3.

Способ осуществляют, как описано в примере 1, но в качестве фермента используют пепсин. Целевой продукт (V=50,0 мл, 136,0 мг) содержит железо в количестве 4,2% в расчете на сухое вещество.

Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели гемопротеина из анадары представлены в таблице.

Таблица Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели гемопротеина из анадары		
№ п/п	Наименование показателей	Значени показателей
5	1 Внешний вид	Аморфный порошок
	2 Цвет	Серо-бордовый
	3 Запах	Свойственный свежим морепродуктам
	4 Массова дол влаги, %, не более	1
	5 Массова дол золы в пересчете на абсолютно сухое вещество, %, не более	6
10	6 Массова дол сырого протеина в пересчете на абсолютно сухое вещество, %, не менее	97
	7 Содержание гемопротеина, %, не менее	96
	8 Массова дол липидов в пересчете на абсолютно сухое вещество, %, не более	2
	9 Содержание железа, г/кг, не менее	30
15	10 Содержание свинца, мг/кг, не более	Не допускаетс
	11 Содержание кадми, мг/кг, не более	Не допускаетс
	12 Содержание ртути, мг/кг, не более	Не допускаетс
	13 Содержание магни, мг/кг, не более	20
	14 Металломагнитна примесь, мг/кг, не более	Не допускаетс
	15 Растворимость, 1 г в 10 мл дистиллированной воды, мин, не менее	10
20	16 Обща бактериальна обсемененность 1 г продукта клеток, не более	4×10^5
	17 Бактерии рода Кишечна палочка	Не допускаетс
	18 Бактерии рода Сальмонелла	Не допускаетс
	19 Токсичность	Не допускаетс

25

Формула изобретения

1. Способ получения железосодержащей биологически активной пищевой добавки, отличающийся тем, что гемолимфу анадары (*Anadara broughtoni*) замораживают, дефростируют, центрифугируют, фильтруют на мембране с размером пор 0,2 мкм, концентрируют и отмывают от посторонних примесей водой на ультрафильтрационной установке с мембраной, пропускающей глобулярные белки с молекулярной массой 300 кДа и ниже с получением оксигемоглобина, затем к оксигемоглобину добавляют протеолитический фермент в соотношении оксигемоглобин : фермент 100:1-2, смесь инкубируют в течение 4-5 ч при температуре 29-39°C, затем полученный гемопротеин отмывают дистиллированной водой от низкомолекулярных продуктов гидролиза и концентрируют на ультрафильтрационной установке с мембраной на 30 кДа.

30

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве протеолитического фермента используют комплекс протеиназ камчатского краба, или папаин, или пепсин.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что целевой продукт лиофильно высушивают.

40

45

50