

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036510**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.11.18

(51) Int. Cl. *A23L 33/195* (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)

(21) Номер заявки
201900120

(22) Дата подачи заявки
2019.03.22

(54) **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ**

(31) **2018125680**

(32) **2018.07.12**

(33) **RU**

(43) **2020.01.31**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ООО "ГИПРОБИОСИНТЕЗ" (RU)

(72) Изобретатель:
**Быков Валерий Алексеевич,
Куликова Наталья Леонидовна,
Левитин Леонид Евгеньевич,
Сафонов Александр Иванович,
Тимошенко Ксения Андреевна (RU)**

(74) Представитель:
Князева Л.А. (RU)

(56) **RU-C1-2613365**

ТИМОШЕНКО К.А. и др. Получение денуклеинизированной биомассы и фрагментов ДНК и РНК путем глубокой переработки биомассы бактерий *Methylococcus capsulatus* штамма ГБС 15. Журнал "Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии". ООО Издательский дом "Русский врач", 2017, т. 20, № 8, сс. 3-5

RU-C1-2091491

US-A1-20070141083

US-A1-20050124053

(57) Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, а именно к биологически активным добавкам (БАД), и может быть использовано в качестве пищевых добавок с высоким содержанием белка и основного компонента продуктов спортивного питания, усиливающих защитные функции организма для проведения лечебно-профилактического питания людей, работающих в зонах экологических бедствий, экстремальных условиях, а также в питании спортсменов. Техническим результатом заявленного изобретения является создание натурального белкового продукта, из которого выделены нуклеиновые кислоты. Предлагаемый БАД обладает высоким энергетическим потенциалом, обеспечивает высокую эффективность при включении в рацион питания в условиях длительных и нарастающих по интенсивности предельных мышечных перегрузок. Применение препарата поддерживает состояние высокой физической и умственной работоспособности в экстремальных условиях. Поставленная техническая задача достигается за счет использования биологически активной добавки защитного действия, характеризующаяся тем, что она представляет собой денуклеинизированный экстракт бактериальной биомассы штамма метаноксилирующих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15.

036510
B1

036510
B1

Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, а именно к биологически активным добавкам (БАД), и может быть использовано в качестве пищевых добавок с высоким содержанием белка и основного компонента продуктов спортивного питания, усиливающих защитные функции организма для проведения лечебно-профилактического питания людей, работающих в зонах экологических бедствий, экстремальных условиях, а также в питании спортсменов.

Научные исследования в области определения как физиологического действия тех или иных ингредиентов, так и их технологических функций являются актуальными и своевременными (Правительство РФ утвердило 25 октября 2010 г. "Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 г." (№ 1873-р).

Перспективным направлением оптимизации питания населения и, прежде всего, той его части, которая испытывает большие физические, психоэмоциональные, умственные нагрузки (например, военнослужащие, спортсмены, шахтеры, работники литейного производства, и др.), служит включение в рацион питания продуктов с повышенным содержанием биологически активных веществ (БАВ), предпочтительно натурального происхождения из растительно-белкового сырья.

Известно большое количество биологически активных добавок к пище, усиливающих защитные функции организма человека.

На сегодняшний день никем не оспаривается тот факт, что спортивные мышечные перегрузки и состояние чрезмерного стресса неразделимы (Зимин Ю.И., 1979; Кассиль Г.Р. и др., 1978). При этом считается доказанным, что любой стресс неизбежно сопровождается повреждением внутренних органов, работающих на пределе своих функциональных возможностей (Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука. - 1981, с. 278). Известно, что у спортсменов (пловцов) высокие титры аутоантител к тканям собственных органов (печень, почки, сердце) более чем в пять раз превышают частоту подобных находок у начинающих здоровых спортсменов.

Известны биологически активные вещества из иловых пород и сапропелевых грязей. Полученные соединения обладают биологической активностью, проявляют гепатозащитный эффект действия (АС. №1260005). Недостатком данного вещества является то, что оно содержит жиросодержащие фракции, поэтому обладает ограниченным спектром применения.

Известна биологически активная добавка к пище, обеспечивающая тонизирующее и стимулирующее действие на организм человека (РФ № 2368250), которая содержит кровь животных, этиловый спирт, раствор цветочного меда и спиртовой экстракт пантов, при этом в качестве крови животных используют кровь марала, северного оленя и дополнительно якутских лошадей. Однако в виду особенности использования крови нескольких видов животных эффективно изготавливать и реализовывать данный препарат в промышленных масштабах затруднительно.

Известно средство, повышающее работоспособность, переносимость экстремальных нагрузок, адаптируемость к экстремальным условиям, содержащее сухие дрожжи, в том числе используемые в пивоварении, обработанные до их лизирования, экстрактами растений либо антиоксидантом (РФ № 2390271). Пивные дрожжи и продукты их переработки обладают полноценным набором незаменимых аминокислот, минералов и витаминов, что делает их прекрасным общеукрепляющим комплексом, но не обладающим адаптогенными и гепатопротекторными свойствами, кроме того, они имеют специфический привкус.

За рубежом широко используют препараты-пробиотики и продукты лечебного питания на основе консорциумов штаммов бифидобактерий видов *B.bifidum*, *B.longum*, *B.adolescentis*, *B.breve*, *B.infantis* в разных комбинациях (Патент США № 5843922, заявка США № 2002015990; патент США № 6335040), а также на основе консорциумов штаммов бифидо- и лактобактерий (Заявка США № 2002090416; патент США № 5866385).

Широкое применение в качестве микробной белковой массы нашли различные штаммы бактерий, являющиеся продуцентами белка. Так, разработаны технологии производства кормового белка на основе отходов спиртовой (послеспиртовой барды) и мукомольной (отрубей, муки) промышленности и смеси барды с отходами зернового сырья (патенты РФ №№ 2159287, 2140449, 2054881; авторские свидетельства СССР №№1595900, 1571061; 1532580; 1507787 и др.). В качестве культур-продуцентов в перечисленных изобретениях используют дрожжеподобные несовершенные грибы рода *Candida*. Недостатком известных штаммов микроорганизмов для производства БАД является отсутствие способности к активному росту в условиях длительного нестерильного процесса культивирования.

Также в качестве микробной белковой массы нашли применение различные штаммы бактерий, являющиеся продуцентами белка: штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Авт.св. СССР № 1575570); штамм *Lactobacillus acidophilus* (РО № 2244000); штамм *Lactobacillus plantarum* (РФ №№ 2390554, 2244001); штамм *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermanii* (РФ № 2247149), штамм *Propionibacterium acnes* (РФ № 2250258); штамм ацидофильных метилотрофных бактерий *Acetobacter methylcum* (авт.св. СССР № 925112); штамм *Flammulina velutipes* (авт. свид. СССР № 727687); штамм *Pleurotus ostreatus* Kummer (авт.св. СССР №427993). Общим недостатком перечисленных выше бактерий является нестабильный выход биомассы, недостаточно высокая продуктивность штамма.

Известны различные штаммы бактерий, продуцирующие кормовой белок, относящиеся к различ-

ным видам метанооксиляющих бактерий (метанотрофы), например, например штаммы рода *Methylococcus capsulatus* ЦМПМВ-1743 (авт.свид. СССР №770200), *Pseudomonas methanica*, *Methylococcus capsulatus* ВКМ В-2116, *Methylocystis parvus* ВКМ В-2129, *Methylosinus sporium* ВКМ В-2123, *Methylosinus trichosporium* ВКМ В-2117, *Methylobacter acidophilus*, *Methylomonas rubra* ВСБ-90, *Methylococcus* sp. ЧМ-9, *Methylococcus capsulatus* ВСБ-874, *Methylococcus minimus*, *Methylomonas methanica*, *Methylomonas agile*.

Они являются продуктами микробиального синтеза, получаемыми в результате культивирования метанооксиляющих бактерий на природном газе. Эти штаммы характеризуются различными скоростями роста и выходом биомассы.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату является штамм *Methylococcus capsulatus* ГБС-15, являющийся продуцентом белковой массы, которую можно использовать для кормления животных (РФ № 2613365).

Задачей изобретения является расширение арсенала биологически активных продуктов для спортивного питания, повышающих функциональные резервы организма, устойчивость к стрессу, способствующих быстрому восстановлению сил после физических нагрузок психоэмоциональное состояние у спортсменов на фоне приема заявляемой биологически активной добавки.

Техническим результатом заявленного изобретения является создание натурального белкового продукта, из которого выделены нуклеиновые кислоты.

Предлагаемый БАД обладает высоким энергетическим потенциалом, обеспечивает высокую эффективность при включении в рацион питания в условиях длительных и нарастающих по интенсивности предельных мышечных перегрузок. Применение препарата поддерживает состояние высокой физической и умственной работоспособности в экстремальных условиях.

Поставленная техническая задача достигается за счет использования биологически активной добавки защитного действия, характеризующаяся тем, что она представляет собой денуклеинизированный экстракт бактериальной биомассы штамма метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15.

Потребность в белках для организма человека достаточно высока в связи с большой скоростью их метаболизма в тканях. Она оценивается нормой порядка 240 г белка в день. Фактическая потребность в пищевом белке обуславливается доступностью незаменимых и заменимых аминокислот, которые требуются для поддержания нормального пищевого статуса взрослого человека, беременных женщин, спортсменов, людей с заболеваниями различной природы, а также для нормального роста и развития детей различного возраста. При недостатке полноценного белка в пище организм переходит в состояние катаболизма, используя свои собственные белки в качестве источника азота. Чтобы избежать этого явления, необходимо своевременное обеспечение организма белками или незаменимыми и заменимыми аминокислотами. Практическое значение имеют не нативные белки, а денатурированные, лучше усваивающиеся организмом человека.

Характеристики исходного сырья для получения заявляемого продукта приведены в табл. 1. Характеристика денуклеинизированной биомассы приведена в табл. 2. Заявленную биологически активную добавку получают путем экстракции из биомассы нативных клеток метанооксиляющих бактерий, далее из полученного экстракта выделяют нуклеиновые кислоты - ДНК и РНК. Содержание белковых веществ в готовом продукте 60-80 мас. %.

По результатам расчетов организация выпуска белкового продукта различной степени очистки в условиях современных биохимических заводов позволяет существенно увеличить рентабельность производства кормового микробного белка за счет реализации более дорогостоящей продукции. Выделенные из белковой массы нуклеиновые кислоты будут являться для производителей товарной продукции, применяемой в медицине и косметологии в качестве иммуномодуляторов и регенеративных средств.

Эффект биозащитного действия заявляемой биологически активной добавки подтвержден испытаниями, проведенными в НИИ медицинских проблем спорта.

Результаты проведенных испытаний показали, что продукт обладает выраженным нормализующим действием на основные системы организма человека, обеспечивает устойчивость при работе в экстремальных условиях. Статистически достоверно получен прирост устойчивости при определении статической физической выносливости в среднем на 30-40%. Испытания воздействия заявляемой биологически активной добавки на организм человека в экстремальных условиях показали, что продукт способствует поддержанию состояния физической работоспособности на более высоком уровне, повышает активность ферментов тканевого дыхания. Использование заявляемой биологически активной добавки в питании спортсменов способствовало сокращению сроков адаптации к метеорологическим факторам, наблюдалось повышение общего иммунитета, происходила нормализация функций желудочно-кишечного тракта.

Раскрытие изобретения

Пример 1.

Исследования эффективности дополнения к обычному рациону питания спортсменов-боксеров заявляемой биологически активной добавки проводились на базе детско-юношеской специализированной спортивной школы Олимпийского резерва по боксу.

Спортсмены основной группы (15 чел.) принимали добавку по 2 столовые ложки 2 раза в день во время еды в течение 40 дней. Контрольную группу составили 14 спортсменов с обычным рационом пи-

тания.

Результаты наблюдения показали улучшение субъективного состояния спортсменов основной группы в среднем на 80%. Положительный эффект выражался в улучшении общего самочувствия, уменьшении симптомов астении, нормализации сна. При исследовании психологического статуса у спортсменов отмечены психофизиологические нарушения у 26,6% обследуемых.

Результаты оценки психофизиологического статуса по динамике теста САН после проведения оздоровительного курса выявили повышение балла самооценки у спортсменов основной группы с 5,17 до 5,69 (в среднем на 10,1%).

В целом данные результаты свидетельствуют о положительном влиянии заявляемой биологически активной добавки на психоэмоциональное состояние спортсменов в основной группе.

При сравнительной оценке силовых показателей методом кистевой динамометрии в основной группе на фоне приема заявляемой биологически активной добавки отмечена тенденция к повышению силового показателя как правой, так и левой кисти по сравнению с контрольной группой.

В основной группе после приема заявляемой биологически активной добавки увеличилась продолжительность задержки дыхания в среднем на 3,8 с (19,8%), в то же время в группе контроля при исходно более высоких средних значениях задержки дыхания отмечено уменьшение продолжительности задержки дыхания в среднем на 1,7 с (7,8%).

Восстановление пульса в основной группе до проведения оздоровительной программы наблюдалось в 74,4% случаев, после курса оздоровления - в 86,6% случаев (увеличилось на 12,2%). В контрольной группе восстановление пульса наблюдалось в начале наблюдения в 78,6% случаев и в конце наблюдения - в 64,3% (уменьшилось на 14,3%).

Анализ показателей артериального давления в основной группе показал, что в начале наблюдения уровень систолического АД восстановился у 80% спортсменов, после оздоровительной программы - у 93,3% спортсменов. В контрольной группе в начале наблюдения уровень систолического АД восстановился у 97,5% спортсменов, в конце наблюдения - также у 97,5%.

Динамика показателей восстановления систолического артериального давления в основной группе после оздоровительной программы улучшилась в среднем на 13,3%. В контрольной группе показатели сохранились на прежнем уровне.

Приведенные данные свидетельствуют о благоприятном влиянии приема заявляемой биологически активной добавки на показатели восстановления уровня систолического и диастолического АД после нагрузки, в то время как в группе контроля не наблюдалось положительной динамики уровня диастолического АД.

На основании полученных результатов сделаны следующие выводы:

1) Обогащение рациона питания заявляемой биологически активной добавки способствует улучшению показателей функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем у спортсменов-боксеров по результатам нагрузочных проб.

2) Выявленная тенденция к повышению силовых показателей по результатам кистевой динамометрии свидетельствует об увеличении мышечной силы в результате.

3) Применение заявляемой биологически активной добавки способствует нормализации показателей вегетативного статуса, что оказывает положительное влияние на выносливость, в том числе увеличение интенсивности и продолжительности физических нагрузок во время соревнований и тренировок.

4) Обогащение рациона питания заявляемой биологически активной добавки приводит к положительным сдвигам в течение адаптационных процессов и, таким образом, способствует повышению резервов адаптации организма спортсменов к повышенным стрессовым и физическим нагрузкам.

Результаты эксперимента представлены в табл. 3-6.

Проведенный эксперимент наглядно показал, что применение заявляемой биологически активной добавки согласно изобретению способствует улучшению показателей функционального состояния спортсменов-борцов. Выявлена тенденция к повышению силовых показателей в контрольных упражнениях после применения данного продукта, что позволяет оптимизировать интенсивность тренировочного процесса у спортсменов. Выявленный достоверный прирост показателей в силовых упражнениях указывает на повышение силовой подготовленности.

Таким образом, заявляемая биологически активная добавка согласно изобретению может эффективно применяться в качестве продукта функционального питания в рационе спортсменов с обеспечением поступления в организм веществ, необходимых для поддержания энергетического баланса организма в условиях повышенных физических и эмоциональных нагрузок, для увеличения мышечной силы и выносливости, для более быстрой адаптации к физическим нагрузкам и восстановления сил после тренировок. При регулярном употреблении продукт оказывает положительное влияние на функциональное состояние сердечно-сосудистой, дыхательной, вегетативной систем, психологическое и эмоциональное состояние человека.

Продукт может быть также рекомендован для сбалансированного питания людей, стремящихся к здоровому образу жизни, для лечебно-профилактического питания на этапах реабилитации после различных заболеваний, для питания детей и подростков.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Биологически активная добавка к пище для усиления защитных функций организма, представляющая собой денуклеинизированный экстракт бактериальной биомассы штамма метанооксилюющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15.

Таблица 1

| Наименование показателя | Значение показателя, %* |
|--|-------------------------|
| Массовая доля влаги, не более | 10,0 |
| Массовая доля сырого протеина, не менее | 70,0 |
| Массовая доля белка по Барнштейну, не менее | 63,0 |
| Массовая доля сырого жира, не более | 14,0 |
| Массовая доля сырой золы, не более | 10,0 |
| Массовая доля аминокислот, не менее, в том числе: | 55,0 |
| - массовая доля лизина, не менее | 4,0 |
| - массовая доля триптофана, не менее | 1,4 |
| - массовая доля цистина, не менее | 0,3 |
| - массовая доля треонина, не менее | 2,4 |
| - массовая доля метионина, не менее | 1,3 |
| * Значения показателей приведены в пересчете на абсолютно сухое вещество | |
| Наименование показателя | Значение показателя |
| Содержание токсичных элементов, мг/кг, не более: | |
| - ртуть | 0,1 |
| - кадмий | 0,4 |
| - свинец | 5,0 |
| - мышьяк | 2,0 |
| - фтор | 50 |
| Токсичность | Не допускается |
| Содержание нитратов, мг/кг, не более: | 200 |
| Содержание нитритов, мг/кг, не более: | 10 |
| Общая бактериальная обсемененность, микробных клеток в 1 г продукта, не более | 10 ⁵ |
| Наличие патогенной микрофлоры: | |
| - сальмонелл в 25 г продукта | Не допускается |
| - протей в 1 г продукта (ТР ТС на корма) [7] | Не допускается |
| Наличие живых клеток продуцента | Не допускается |
| Содержание металломагнитной примеси: | |
| - частиц размером до 2 мм включительно, мг/кг, не более | 20 |
| - частиц размером свыше 2 мм и с острыми краями | Не допускается |
| Содержание радиоактивных веществ, Бк/кг, не более: | |
| - цезий -137 | 370 |
| - стронций - 90 | 50 |

Таблица 2

| Наименование показателя | Значение показателя, %* |
|--|-------------------------|
| Массовая доля влаги, не более | 10,0 |
| Массовая доля сырого протеина | 60,0-80,0 |
| Массовая доля белка по Барнштейну, не менее | 60,0 |
| Массовая доля сырого жира, не более | 11,0 |
| Массовая доля сырой золы, не более | 10,0 |
| Массовая доля аминокислот, не менее, в том числе: | 55,0 |
| - массовая доля лизина, не менее | 3,5 |
| - массовая доля триптофана, не менее | 3,0 |
| - массовая доля цистина, не менее | 0,5 |
| - массовая доля треонина, не менее | 1,8 |
| - массовая доля метионина, не менее | 2,5 |
| * Значения показателей приведены в пересчете на абсолютно сухое вещество | |
| Наименование показателя | Значение показателя |
| Содержание токсичных элементов, мг/кг, не более: | |
| - ртуть | 0,1 |
| - кадмий | 0,4 |
| - свинец | 5,0 |
| - мышьяк | 2,0 |
| - фтор | 50 |
| Токсичность | Не допускается |
| Содержание нитратов, мг/кг, не более: | 200 |
| Содержание нитритов, мг/кг, не более: | 10 |
| Общая бактериальная обсемененность, микробных клеток в 1 г продукта, не более | 10 ⁵ |
| Наличие патогенной микрофлоры: | |
| - сальмонелл в 25 г продукта | Не допускается |
| - протей в 1 г продукта (ТР ТС на корма) [7] | Не допускается |
| Наличие живых клеток продуцента | Не допускается |
| Содержание металломагнитной примеси: | |
| - частиц размером до 2 мм включительно, мг/кг, не более | 20 |
| - частиц размером свыше 2 мм и с острыми краями | Не допускается |
| Содержание радиоактивных веществ, Бк/кг, не более: | |
| - цезий -137 | 370 |
| - стронций - 90 | 50 |

Таблица 3

| Таблица 3 | | | | | |
|---|-----------------------------|------------|-------------------|-------|------------------------------|
| Показатели в контрольных упражнениях в начале наблюдения в экспериментальной группе | | | | | |
| Кол-во подтяг. | Жим штанги лежа своего веса | Приседания | Отжим, на брусьях | ИГСТ | Кол-во бросков 4 мин; 4×10 с |
| 12.18 | 2.12 | 6.37 | 9.56 | 25.62 | 32,75; 14.12 |
| Таблица 4 | | | | | |
| Показатели в контрольных упражнениях до начала наблюдения в контрольной группе | | | | | |
| Кол-во подтяг. | Жим штанги лежа своего веса | Приседания | Отжим, на брусьях | ИГСТ | Кол-во бросков 4 мин; 4×10 с |
| 10,5 | 1,43 | 7,81 | 12.0 | 26.11 | 27.35; 15.21 |
| Таблица 5 | | | | | |
| Показатели в контрольных упражнениях в конце наблюдения в экспериментальной группе | | | | | |
| Кол-во подтяг. | Жим штанги лежа своего веса | Приседания | Отжим на брусьях | ИГСТ | Кол-во бросков 4 мин; 4×10 с |
| 17.25 | 5.25 | 18.43 | 16.37 | 24.58 | 35.75; 13.75 |
| Таблица 6 | | | | | |
| Показатели в контрольных упражнениях в конце наблюдения в контрольной группе | | | | | |
| Кол-во подтяг. | Жим штанги лежа своего веса | Приседания | Отжим, на брусьях | ИГСТ | Кол-во бросков 4 мин; 4×10 с |
| 13.62 | 2.12 | 10.31 | 14.37 | 24.37 | 27.14; 13.85 |

