

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWAURZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

62013

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 30.X.1968 (P 129 810)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 20.I.1971

Kl. 6 b, 16/03

MKP C 12 d, 5/00

CZYTELNIA

UKD
Urzędu Patentowego
P. 11. 1971

Współtwórcy wynalazku: Henryk Świtek, Zdzisław Pazola, Józef Janicki

Właściciel patentu: Centralne Laboratorium Przemysłu Koncentratów
Spożywczych, Poznań (Polska)

Sposób otrzymywania karotenów metodą mikrobiologiczną

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania karotenoidów metodą głębokiej fermentacji aerobowej za pomocą skojarzonej hodowli seksualnie przeciwstawnych szczepów pleśni z rodziny Choanephoraceae na płynnym podłożu odżywczym, do którego wprowadza się stymulatory biosyntezy karotenu.

W znanych sposobach wytwarzania karotenoidów za pomocą skojarzonej hodowli pleśni z rodziny Choanephoraceae, szczególnie za pomocą 10 szczepów *Blakeslea trispora* stosuje się często dodatek do płynnego podłoża odżywczego różnych substancji jako stymulatorów biosyntezy karotenu.

Znany sposób według opisu patentowego Stanów Zjedn. Am. nr 2.890.989 zaleca stosowanie 15 jako stymulatora beta-jononu w ilości 0,1% w stosunku do ilości podłoża odżywczego.

Według polskiego opisu patentowego nr 61933 jako stymulatora użyć można czystą pirydynę 20 albo jej szeroką frakcję w ilości 0,005%—0,2% wagowych w stosunku do ilości podłoża, przy czym korzystny jest dodatek w granicach 0,04%—0,1%.

Użycie stymulatorów zwiększa wydajność karotenoidów w procesie biosyntezy, jednak wymienione substancje stymulujące czynią to w 25 niejednakowym i często w bardzo różniącym się od siebie stopniu, na przykład dodatek pirydyny zwiększa wydajność o 20—30% w porównaniu 30

2

ze sposobem uwzględniającym użycie do tego celu betajononu. Stwierdzono, że stosowanie dodatku beta-jononu w optymalnej ilości 0,1% dla zachowania właściwego przebiegu biosyntezy, jak to przyjęto w znanych sposobach, nie wpływa korzystnie na właściwości organoleptyczne końcowego produktu. Zmniejszenie natomiast tego dodatku choćby w minimalnej ilości poważnie i nieproporcjonalnie zmniejsza wydajność karotenoidów.

Na drodze zmniejszenia dodatku beta-jononu nie można więc osiągnąć korzystniejszych właściwości organoleptycznych produktu, co jest poważną wadą tego znanego sposobu wytwarzania.

Przy użyciu w charakterze stymulatora pirydyny i jej szerokiej frakcji podnosi się wprawdzie wydajność karotenoidów w porównaniu do metody stosującej beta-jonon, a otrzymane karotenoidy mają dobre właściwości barwiące, lecz ich 20 aktywność prowitaminowa jest zmniejszona z uwagi na mniejszą zawartość najbardziej biologicznie wartościowego karotenoidu — beta-karotenu, który występuje w ilości 40—42%.

Celem wynalazku jest usunięcie tych wad i opracowanie sposobu za pomocą którego zawartość beta-karotenu w karotenoidach otrzymanych na drodze mikrobiologicznej podniesiona zostanie do ilości przekraczającej 42%, przy jednoczesnym 30 uzyskaniu wysokiej wydajności sumy karoteno-

idów, a ponadto osiągnięciu pożądanych właściwości organoleptycznych końcowego produktu.

Niespodziewanie po licznych doświadczeniach stwierdzono, że można to zadanie rozwiązać jeśli w charakterze stymulatorów użyje się pirydynę lub jej szeroką frakcję łącznie ze zmniejszoną ilością beta-jononu.

Sposobem według wynalazku dodaje się do podłoża fermentacyjnego 0,01—0,04% wagowych beta-jononu oraz 0,005—0,2% wagowych pirydyny, aby łączne działanie tych stymulatorów nasiliło proces biosyntezy w kierunku zwiększenia zawartości beta-karotenu.

Stymulatory dodaje się w sposób sterylny do tanku fermentacyjnego zawierającego wysterylizowaną i ochłodzoną do temperatury 26—28°C płynną pożywkę do której wprowadzono inokulum szczepu pleśni. Wprowadzenie stymulatorów może nastąpić na początku fermentacji albo korzystniej po 36—48 godzinach od jej zapoczątkowania.

Fermentacja prowadzona jest w znanych warunkach aerobowych około 120 godzin. Okazało się, że grzybnia otrzymana z fermentacji przy pomocy stymulatorów zastosowanych według wynalazku odznacza się dużą wydajnością karotenoidów, które zawierają 70—80% pożądanego beta-karotenu, zaś ekstrakt tłuszczowy tej grzybni odznacza się klarowną i piękną czerwoną barwą.

Reasumując sposobem według wynalazku osiąga się produkt końcowy zawierający około 73% beta-karotenu przy jednoczesnej dużej wydajności sumy karotenoidów z podłoża. Łączne cechy, a w szczególności smak, zapach i barwa, zdolności barwiące, a także aktywność prowitaminowa są znacznie lepsze niż w przypadku użycia każdego z tych stymulatorów oddzielnie.

Produkt osiągnięty sposobem według wynalazku może być użyty do uszlachetnienia, wzbogacenia i barwienia środków spożywczych.

Sposób według wynalazku przedstawiony jest bliżej na przykładzie.

Przykład. Sporządzono płynne podłoże odżywcze o składzie:

drożdże suszone	3,0	kg
kukurydza mielona	2,5	kg
soja mielona	3,0	kg
nafta odwoniona	4,0	kg
chlorowodorek tiaminy	0,0002	kg

olej autoklawowy z rafinacji oleju
sojowego
woda

4,6 kg
95,0 kg

Razem 112,1002 kg

Powyższe podłoże podano sterylizacji w tanku, a następnie schłodzono do 27°C, po czym wprowadzono do niego 10% objętościowych to jest 11 l płynnego inokulum pleśni, *Blakeslea trispora* dla rozpoczęcia fermentacji. Po 40 godzinach od zapoczątkowania fermentacji wprowadzono do podłoża odżywczego w tanku:

— 0,05% wagowych, to jest 56 g czystej pirydyny oraz

— 0,02% wagowych, to jest 22,4 g beta-jononu.

Po zakończeniu fermentacji, co nastąpiło po 115 godzinach, oddzielono powstałą grzybnię od płynnego podłoża przez odwirowanie i następnie wysuszone uzyskując 6,7 kg suchej grzybni.

Po przeprowadzeniu analizy grzybni stwierdzono zawartość 121 g karotenoidów, z których beta-karoten stanowił 73%. Ekstrakt olejowy karotenoidów posiadał dobre cechy organoleptyczne.

Równolegle do przedstawionego przykładu przeprowadzono dla celów kontrolnych w tych samych warunkach fermentację tej samej ilości podłoża odżywczego o identycznym składzie z tym jednak, że do podłoża wprowadzono 0,1% wagowych to jest 112 g czystej pirydyny. Po zakończeniu fermentacji i wysuszeniu oddzielonej grzybni oznaczono w niej zawartość karotenoidów. Stwierdzono, że grzybnia zawiera 115 g karotenoidów z czego 41,5% stanowił beta-karoten czyli o 31,5% mniej w stosunku do sumy karotenoidów otrzymanych sposobem według wynalazku to jest przy użyciu beta-jononu łącznie z pirydyną.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania karotenoidów metodą mikrobiologiczną na drodze fermentacji aerobowej za pomocą skojarzonej hodowli przeciwnych seksualnie szczepów pleśni z rodziny Choanephoraceae na płynnym podłożu odżywczym zawierającym beta-jonon jako stymulator procesu biosyntezy, **znamienny tym**, że do podłoża dodaje się w charakterze stymulatora biosyntezy karotenoidów pirydynę w ilości 0,005—0,2%, korzystnie 0,02—0,1% wagowych w stosunku do ilości podłoża, zaś ilość beta-jononu dobiera się tak, aby zawartość jego w podłożu stanowiła 0,01—0,04% wagowych.