



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 135965

(51) Int. Cl.² A 23 P 1/00

(21) Patensøknad nr. 4814/71

(22) Inngitt 23.12.71

(23) Løpedag 23.12.71

(41) Alment tilgjengelig fra 30.06.72

(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 28.03.77

(30) Prioritet begjært 29.12.70, Japan, nr. 128940/70

(54) Oppfinnelsens benevnelse Fremgangsmåte til fremstilling av formede polysakkaridprodukter.

(71)(73) Søker/Patenthaver TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.,
27, Doshomachi 2-chome,
Higashi-ku, Osaka,
Japan.

(72) Oppfinner HIROSHI KIMURA, Kamigyo-ku, Kyoto,
KENSUKE KUSAKABE, Suita, Osaka,
KATSUHIKO TOKUDA, Takatsuki, Osaka,
MASARU MIYAWAKI, Takatsuki, Osaka,
HIROMI NAKATANI, Higashi-yama-ku, Kyoto,
Japan.

(74) Fullmektig Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner US patent nr. 3301848 (260-209), 3362831 (99-131)
Agr. Biol. Chem., vol. 30, nr. 2, s. 196-198.

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte til fremstilling av formede polysaccarid-produkter.

Hittil har termoherdbare polysaccarider som i det vesentlige består av β -1,3-glukoseenheter, vært anvendt som mat eller matvaretilsetning. For å kunne herde og støpe disse polysaccarider har man imidlertid ansett det nødvendig å suspendere polysaccaridene i f.eks. vann, vandig alkohol eller vann inneholdende propylenglykol, og oppvarme suspensjonen til en temperatur på minst ca. 60°C. Således omfattet de tidligere metoder alltid oppvarming som et nødvendig ledd. Imidlertid medførte denne varmeherding forskjellige ulemper. Gjenstander som fremstilles etter denne metode mister termoherdbarheten og kan ikke gjennomgå ytterligere varmetafseglingsprosesser, og vil

heller ikke swelle ved nedsenkning i vann. På grunn av oppvarmingsprosessen var det også teknisk vanskelig å fremstille gjenstander med innviklet form i større målestokk.

Foreliggende søkere har gjennomført utstrakte studier og har funnet at når nevnte termoherdbare polysaccarider oppløses i en oppløsning som inneholder et visst oppløseliggjørende middel og det oppløseliggjørende middels konsentrasjon deretter senkes, vil polysaccaridene herde uten oppvarming.

Ifølge foreliggende oppfinnelse er det således tilveiebragt en fremgangsmåte til fremstilling av formede polysaccaridprodukter, og denne fremgangsmåte er kjennetegnet ved at man ved en temperatur på ikke over 60°C under hele fremgangsmåten oppløser et polysaccarid til et innhold av 1-10 % (vekt/volum), hvilket polysaccarid har evne til i varme å danne en gel i en konsentrasjon på ikke under 1 % (vekt/volum) og hovedsakelig består av β -1,3-glukoseenheter, i en oppløsning som inneholder et oppløseliggjørende middel som kan være natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd, bariumhydroksyd, ammoniumtiocyanat, kaliumtiocyanat, kalsiumtiocyanat, natriumtiocyanat, bariumtiocyanat, kalsiumklorid, trinatriumfosfat eller sinkklorid, og at man deretter minsker innholdet av dette oppløseliggjørende middel i oppløsningen ved diffusjon eller nøytralisering, hvorved polysakkaridet bringes til å geldannes i en forutbestemt form.

Ovenstående termoherdbare polysaccarider kan f.eks. fremstilles ved å dyrke mikroorganismer som hører til slekten *Alcaligenes* eller *Agrobacterium* i et medium som inneholder glukose som karbonkilde og utvinnes fra mediet som et hvitt eller gulhvitt pulver i dehydrert og tørket form. Glukose er hovedsukkeret i polysaccaridet og under IR-analyse viser pulveret de karakteristiske egenskaper for polysaccarider og har β -leddets karakteristiske absorpsjon ved 890 cm^{-1} . Videre har polysaccaridene meget spesielle trekk.

Således sweller de og geler (herder) når de helles i vann og oppvarmes. Hvis de suspenderes i vann i en konsentrasjon på ca. 1% og oppvarmes, danner polysaccaridene en gel som er termisk irreversibel og ikke suspenderes ved tilsetning av vann. Polysaccaridenes gelstyrke er mellom ca. 470×10^3 til $1\,300 \times 10^3\text{ dyn/cm}^2$ målt på følgende måte: En prøve på 2,0 g tilsettes rent vann ad 100 ml og homogeniseres i en rører i 5 min. Den dannede suspensjon overføres til et reagensglass med 15 mm diameter hvor prøven avgasses for

å fjerne luftbobler under nedsatt trykk på høyst 10 mmHg, fulgt av oppvarming i kokende vannbad i 10 minutter. Deretter avkjøles blandingen med kaldt vann i 10 minutter og henses ved romtemperatur i 30 minutter. Den stivnede gel taes ut av røret og skjæres i 1,0 cm tykke skiver idet øvre sjiktet kastes. Gel-skivens kompresjonsmotstand mot sylindren (5,6 mm diameter) i trykkmåleren akkurat før sylindren trengs inn i skiven måles og avleses på en dyn-skala. Trykkmotstandsverdien oppsettes som prøvens gelstyrke.

Mikroorganismene i slekten *Alcaligenes* som produserer de angitte polysaccharider omfatter f.eks. *Alcaligenes faecalis* var myxogenes NTK-u (IFO-13140), en mutantart som fremstilles ved behandling av foreldrearten K med N-metyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin, (en art som kan produsere polysaccharid "PS-B") og *Alcaligenes faecalis* var myxogenes K (en art som produserer polysaccharidet "Curdlan", se Agricultural Biological Chemistry, bind 30, side 196 og følgende (1966) av Harada et al. Mikroorganismene i slekten *Agrobacterium* omfatter arter som IFO 13126 og IFO 13127 som er identifisert som *Agrobacterium radiobacter* og kan produsere polysaccharid PS-A. "IFO" betegner lagringsnummeret i Institute for Fermentation, Osaka, Japan.

For fremstilling av de aktuelle polysaccharider inkuberes mikroorganismene i et medium som inneholder assimilerbar karbon (f.eks. glukose, sukrose, sorbitol, dekstrin, stivelsehydrolysater, organiske syrer), fordøyelige nitrogenkilder (f.eks. uorganiske ammoniumsalter, nitrater, organiske nitrogenkilder som gjærekstrakt, maisbløtningsvann, maisgluten, soyabønnemel), uorganiske salter (f.eks. salter av mangan, jern, magnesium, kalsium, sink, kobolt). Om ønsket kan man tilsette vekstbefordrende sporstoffer som f.eks. vitaminer, nukleinsyre-forbindelse o.s.v. til kulturmediet. Ved dyrking av arten NTK-u må man tilsette 50 til 1000 µg/ml uracil.

Selv om de foretrukne dyrkningsbetingelser varierer med de forskjellige mikroorganismer, gjennomføres dyrkingen av hovedkulturen for produksjon av polysaccharidene vanligvis ved et behov mellom ca. 5 og 8 og temperaturer 20 til 35°C i to til fire dager, idet man benytter dyrking i ristekultur eller dypekultur.

Idet polysaccharidene som fremstilles vanligvis foreligger utenom cellene, kan man for deres utvinning benytte en kombinasjon av forøvrig kjente teknikker for separasjon og rensing av polysaccharider. For eksempel kan man bruke teknikker som oppløsning, fil-

trering, felling (f.eks. ved nøytralisasjon, utsalting eller liknende), avsalting (f.eks. ved membran selektiv dialyse, revers dejonisering eller liknende), væske-faststoff-separasjon (f.eks. ved pressing, sentrifugering eller liknende), tørking (f.eks. ved sprøytetørking, frysetørking eller liknende), pulverisering etc.

Enkelte eksempler på fremstilling av polysaccarider er oppført nedenfor.

Eksempel A-1.

En mengde fra en skråsubstrat-kultur av *Agrobacterium radiobacter* (IFO-13127) inokuleres i 30 ml vandig kulturmedium på 200 ml's kolbe, og mediet består av glukose 5%, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,1%, gjærekstrakt 0,5%, KH_2PO_4 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,005%, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,002%, ZnCl_2 0,001%, CoCl_2 0,001% og vann, og innstilles på pH 7,2. Dyrkingen gjennomføres ved rysting ved 28°C i fire dager.

Den dannede viskøse buljong sentrifugeres ved 10 000 omdr./min. i 20 minutter for å skille faststoff fra væske. Til sedimentet settes vandig 0,5N-NaOH oppløsning og man rører grundig for helt å oppløse sedimentets polysaccarid-andel. Oppløsningen sentrifugeres igjen ved 10 000 omdr./min. i 20 minutter for å fjerne cellene. Oppløsningen nøytraliseres med 12%-ig vandig HCl-oppløsning og det ønskede polysaccarid skilles ut som en gel. Denne gelfraksjon oppsamles ved sentrifugering ved 2000 omdr./min. i 10 minutter, og vaskes to eller tre ganger med vann, hvorefter man dehydrerer med aceton og tørker til 420 mg PS-A.

Til den overflytende væske etter sentrifugering av kulturmediet settes 4 ganger et volum av aceton. Fellingene som oppsamles tørkes til 120 mg polysaccarid PS-A.

Spesifik dreining::

$-17^\circ \pm 3^\circ$ (C=1,0, dimetylsulfoksyd)

+ $33^\circ \pm 6^\circ$ (C=1,0, 0,1N-NaOH)

Elementæranalyse (%):

Beregnet for $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ C= 44,44 H= 6,17

Funnet C= 43,28 $\pm$ 1% H= 6,20 $\pm$ 0,5

N= 0,00

Gelstyrke: 650×10^3 til 1300×10^3 dyn/cm².

Eksempel A-2.

Alcaligenes faecalis var *myxogenes* Art NTK-u (IFO 13140) inokuleres i 30 ml kulturmedium på 200 ml Erlenmyer-kolbe, mediet består av glykose 1,0%, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,15%, KH_2PO_4 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%,

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,005%, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,002%, SnCl_2 0,001%, CoCl_2 0,001%, gjærekstrakt 0,1%, CaCO_3 0,3%, uracil 0,01% og vann med pH-innstilling 7,0. Man dyrker i rystekultur ved 32°C i 24 timer.

En 2 ml's del av kulturmediet inokuleres i 20 ml hovedkulturmedium på en 200 ml's Erlenmyers-kolbe, og dette medium består av glukose 10,0%, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,23%, KH_2PO_4 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,005%, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,002%, ZnCl_2 0,001%, CoCl_2 0,001%, CaCO_3 0,3%, uracil 0,01% og vann, og innstilles på pH 7,0. Man dyrker i rystekultur ved 32°C i 90 timer.

De dyrkede buljonger som man får på denne måten fra forskjellige kolber slås sammen. Til 80 ml av mediet settes 240 ml vandig 0,5N-NaOH-oppløsning og man rører grundig inntil polysaccharidet som er dannet er oppløst. Til blandingen settes 160 ml vann. Den fortynnede oppløsning sentrifugeres ved 12000 omdr./min. i 10 minutter for å fjerne fast stoff, inkludert cellene. Den overflytende væske nøytraliseres med 3N-HCl og gelsedimentet skilles ut. Sedimentene oppsamles ved sentrifugering og vaskes med vann inntil saltene er fjernet. Deretter sentrifugeres sedimentene igjen for oppsamling av det ønskede polysaccharid PS-B. Dehydrering med aceton og tørking under nedsatt trykk gir 4,4 g PS-B. Utbytte i forhold til glukose er 55%.

Spesifik dreining:

$-16^\circ + 3^\circ$ (C=0,5, dimetylsulfoksyd)
 $+ 31^\circ \pm 6^\circ$ (C=1,0, 0,1N-NaOH)

Elementæranalyse (%):

Beregnet for $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$: C= 44,44 H= 6,17

Funnet: C= 43,58 $\pm$ 1 H= 6,46 $\pm$ 0,5
 N= 0,00

Gelstyrke:

650×10^3 til 1300×10^3 dyn/cm²

Eksempel A-3.

Alcaligenes faecalis var myxogenes K dyrkes på samme måten som beskrevet i eks. A-1 og buljongen sentrifugeres. Til sedimentet settes en vandig 0,5N-NaOH-oppløsning for å oppløse polysaccharid-andelen i sedimentet. Oppløsningen nøytraliseres og polysaccharidet "curdlan" skilles ut.

Spesifik dreining:

-18° (0,1N NaOH)

Elementæranalyse (%):

135965

6

043,55 H6,05 048,39

N og andre mindre bestanddeler 2,01.

Gelstyrke:

470×10^3 til 500×10^3 dyn/cm².

Gelstyrken i eks. A-1 til A-3 ble målt som ovenfor beskrevet.

Betingelser for fremstilling av formede polysaccarid-artikler.

I henhold til foreliggende oppfinnelse blir polysaccaridene først oppløst i en oppløsning som inneholder oppløseliggjørende middel (solubiliseringsmiddel). Som oppløseliggjørende middel kan man med fordel bruke sterke alkalier som natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd, bariumhydroksyd etc., tiocyanater som ammoniumtiocyanat, kaliumtiocyanat, kalsiumtiocyanat, natriumtiocyanat, bariumiocyanat etc., kalsiumklorid, trinatriumfosfat og sinkklorid.

Med fordel oppløses det oppløseliggjørende middel på forhånd i vann i nedenfor angitt konsentrasjon. Når det gjelder sterke alkalier som natriumhydroksyd etc. brukes 0,01% (w/v) og opptil mettede oppløsninger, fortrinnsvis oppløsninger med styrke 0,05 til 5% (w/v) i vann. For tiocyanater som ammoniumtiocyanat, kaliumtiocyanat etc., brukes fra 25%-ige og opptil mettede vandige oppløsninger (w/v), fortrinnsvis 25 til 50%-ige vandige oppløsninger (w/v) og helst 40 til 50%-ige oppløsninger. For kalsiumklorid og sinkklorid benyttes 30%-ige vandige oppløsninger (w/v), fortrinnsvis mellom 30 og 50%-ige (w/v) oppløsninger, og for trinatriumfosfat brukes mellom 0,5 og opptil mettede oppløsninger (w/v). Når man bruker en vandig oppløsning av en sterk alkali som oppløsningsmiddel oppløses polysaccaridene under sterkt alkaliske forhold ved pH over 10,5 og i slike tilfelle kan oppløsningen enkelt fremstilles ved å benytte systemets pH som indikator.

Man oppløser polysaccaridene i disse vandige oppløsninger i en mengde på ca. 1 til 10% (w/v) og blandingen røres jevnt.

I mengder på under 1% (w/v) blir viskositeten for de stoffer som fremkommer ved den følgende nøytralisering eller diffusjon litt for lav til å danne gode produkter. På den annen side vil forbindelsen i mengder på over 10% vanskelig kunne danne formede gjenstander.

Når polysaccaridene oppløses i en vandig oppløsning av noen av de nevnte oppløseliggjørende midler, vil polysaccaridenes

hydrogenbindinger lett brytes til en oppløsning med egnet viskositet.

Derpå blir mengden av oppløseliggjørende middel i oppløsningene senket eller fjernet. For dette formål kan man bruke midler som diffusjon (dialyse, utvasking etc.) og nøytralisering av de oppløseliggjørende midler. Dialyse er et av de beste midler. Som dialytiske membraner fremstilles blærer av stoffer som cellofan, celluloseacetat, fiskeblærer, svineblærer etc., og etter at ovenstående oppløsninger er dispergert i nevnte blærer lukkes de og senkes ned i vann hvorpå det oppløseliggjørende middel fjernes dialytisk og man følgelig danner gel-gjenstander som formes etter blærens form.

Siden polysaccaridoppløsningen har en relativt høy viskositet selv ved lav konsentrasjon, kan oppløsningen senkes direkte i vann.

I dette tilfelle starter oppløsningen raskt og gele i kontaktflaten. Det oppløseliggjørende middel kan fjernes i ønsket grad avhengig av formål, gjenstand, behandlingsmetode og andre faktorer.

Når det oppløseliggjørende middel er en sterk alkali som natriumhydroksyd, er det imidlertid ikke noen fordel å fjerne reagense ved ovenstående diffusjonsprosess, for polysaccaridene holder seg oppløst selv ved lav alkalikonsentrasjon. I disse tilfeller er det gunstig å overføre det oppløseliggjørende middel til en annen og forskjellig forbindelse, f.eks. ved nøytralisering. Når man således anbringer en alkalioppløsning av polysaccarider i en sur oppløsning, f.eks. saltsyre, foregår nøytraliseringsreaksjonen umiddelbart og hele alkalimengden overføres til det tilsvarende salt. Det dannede saltet kan lett fjernes med vasking med vann.

Man kan bruke mange forskjellige syrer til ovenstående nøytralisasjon, organiske eller uorganiske, bare de benyttes i tilstrekkelig konsentrasjon til å nøytralisere alkalien i oppløsningen. Imidlertid er saltsyre særlig gunstig på grunn av at saltet lett lar seg vaske ut etter geling. For å gi den herdede gel en smak kan man med fordel bruke fordøyelige organiske syrer som eddiksyre, sitronsyre, ravsyre, eplesyre, askorbinsyre, melkesyre og liknende.

Ved hjelp av kombinasjonen av ovenstående trekk oppnås i henhold til oppfinnelsen fremragende resultater. Siden gelingen og støpingen kan utføres uten oppvarming som hittil er betraktet som uunværlig, vil formede gjenstander som fremstilles i henhold til

foreliggende metode beholde den termoherdende evne som polysaccaridene har og det kan derfor varmemeforsegles. For dette formål holdes temperaturen på høyest 60°C. Hvis varmebehandlingen gjennomføres samtidig under nøytralisering- eller difusjons-trinnet vil gjenstandenes varmeherdbarhet mistes. Imidlertid vil de derved fremstilte artikler være mye bedre med hensyn til egenskaper enn artikler fremstilt ved enkel varmegeling i henhold til kjent teknikk.

Formede polysaccarid-gjenstander i henhold til oppfinnelsen er spiselige eller ikke-spiselige støpte artikler og omfatter elastiske, transparente eller opake geler som kan fremstilles av ovenstående polysaccarider, samt tørkede former av slike geler.

Gjenstandenes form kan velges som ønsket, f.eks. kuleformede, elipseformede eller kubiske gjenstander eller gjenstander med mer komplisert form, f.eks. jordbær, banan, manet, sjøpølse, film, rør, gryn, drueklase etc.

Spiselige formede gjenstander kan f.eks. bestå av spiselige filmer, spiselige rør, drueformede matvarer, gryn- eller nudleformede matvarer etc., og ufordøyelige artikler kan være innpakkingsfilmer, innpakkingsrør, tørkede geler inneholdende gjødningsstoffer for dyrking av planter, forskjellige typer leketøysgel-gjenstander etc., gel-ornamenter, dekorasjoner etc. som kan brukes også i vann.

De formede gjenstander i henhold til oppfinnelsen er således sammensatt av polysaccarider som er smaksfrie, luktfrie og ugiftige. Polysaccaridartiklene er uoppløselig i vann og varmt vann og vil ikke deformeres selv under oppvarming i kokende vann. Hvis den resulterende gel dessuten dyppes i en oppløsning som inneholder et pigment, smakstilsetning og/eller krydder og deretter lufttørkes får man en tørr gel som inneholder disse additiver.

Den lufttørkede gel er reversibel, d.v.s. at den sveller ved nedsenkning i vann og går tilbake til den opprinnelige geltilstand. På denne måten lar oppfinnelsen seg anvende på mange forskjellige måter.

Under gelingsprosessen i henhold til oppfinnelsen kan polysaccaridene brukes i kombinasjon med slike alkalioppløselige stoffer som stivelser og proteiner. Ved siden av disse stoffer kan man også bruke alkali uoppløselige stoffer i den grad de er stabile mot alkalie og syrer. Man kan således tilsette forskjellige additiver og naturprodukter som smakstoffer, kryddere, fargestoffer etc. Tilsetning av stivelse eller dekstrin gir en mer delikat overflate i munnen. Det

skal imidlertid bemerkes at hvis den samlede mengde slike tilsetningsstoffer overstiger 80% (vekt) på basis av den samlede mengde polysaccarider og tilsetningsstoffer på tørrbasis, vil man vanskelig kunne oppnå den ønskede geling.

Tilsetning av vannoppløselige additiver er uønsket idet disse vil difundere ut under gelingen og følgende vasking. For å unngå slike tilstander fremstilles en gel som består utelukkende av polysaccarider og deretter nedsenkes gelen i en oppløsning som inneholder de ønskede vannoppløselige stoffer og tørkes. Eventuelt kan man først fremstille tørre ark av bare polysaccarider. Deretter kan det ønskede stoffet legges som et laminat mellom to slike plater og det hele varmesforsegles. Med andre ord fremstilles polysaccarid-gelen først og deretter tilsettes de ønskede vannoppløselige stoffer på egnet måte.

Slike fremgangsmåter er særlig egnet for fremstilling av tørre geler som skal brukes innen landbruket og består av vannoppløselige næringsstoffer for dyrkning av prydblomster og tørre geler inneholdende medikamenter for bruk i badevannet.

For fremstilling av en spiselig film i henhold til oppfinnelsen oppløses polysaccaridene i en oppløsning av natriumhydroksyd og oppløsningen avgasses under nedsatt trykk. Polysaccaridoppløsningen helles som et tynt sjikt på en egnet plate og nøytraliseres i en %-ig saltsyre (w/v). Den resulterende gelfilm vaskes med vann for å fjerne saltet og tørkes ved lav temperatur på passende måte. Ovenstående fremgangsmåte gir en varmesforsegelbar spiselig film.

Hvis alkalioppløsningen av polysaccarider fremstilt på ovenstående måte ekstruderes gjennom en spalte eller ringformet dyse inn i en sur oppløsning får man artikler i plateform eller rørform.

Ovenstående teknikk kan anvendes for fremstilling av ikke-spiselige filmer og for dette bruk kan man benytte et større spektrum av oppløseliggjørende midler. For eksempel kan polysaccaridene oppløses i en vandig tiocyanatoppløsning og oppløsningen helles ut som et tynt flatt sjikt på en plate. Deretter nedsenkes platen i vann hvorpå tiocyanatet difunderer ut i vannet og samtidig begynner polysaccaridet og gele. Oppløsningsmidlet i gelmassen erstattes med vann og derfor kan utvaskingstrinnet utelates. På denne måten kan filmen fremstilles enklere enn ved ovenstående alkali-utløsning. Dessuten kan man fremstille ringformede eller platelignende gjenstander ved å ekstrudere oppløsningen gjennom en ringformet eller spalteformet dyse

på ovenstående måte.

Den spiselige eller ikke-spiselige film som kan fremstilles på denne måten er transparent og skinnende samt så varmebestandig at den ikke deformeres eller nedbrytes i kokende vann.

Hvis vanlig ferskt smør innpakkes i filmen og oppbevares i varmeskap ved 35°C (man anbringer et filterpapir under filmen og undersøker for eventuell utsivning av smeltet smør), finner man intet gjennomsivet smør selv etter 7 dager. Filmen er således oljebestandig. Gjennomtrengeligheten overfor fuktighet og ikke-gjennomtrengeligheten overfor oksygen kan sammenliknes med disse egenskaper hos cellofan (se tabell 2).

Videre kan filmen fordi den er smaksfri, luktfri, ugiftig og varmemerkeglbar finne en rekke anvendelser.

Sammenliknet med kjente typer kliniske filmer, er spiselige filmer i henhold til denne oppfinnelsen helt overlegne i mekanisk styrke og fuktighetsbestandighet.

Hvis ovenstående oppløsning av polysaccarider i sterk alkali dryppes ut i en syreoppløsning gjennom en dyse med egnet diameter, herder polysaccaridet til små kuler under påvirkning av overflatespenningen og man får et spiselig produkt som likner rogn. Uspiselige geler som likner rogn kan fremstilles ved å oppløse polysaccaridene i en tiocyanatoppløsning på ovenstående måte og dryppe oppløsningen ut i vann. Siden gelkulene fremdeles har i behold polysaccaridets varmemerkeglbarhet, kan man fremstille et produkt som likner ekte rogn, f.eks. tørske rogn eller silderogn, ved å sammenbygge et større antall slike kuler og hurtig oppvarme sammensetningen til en masse hvor de enkelte kuler beholder deres opprinnelige form.

Hvis en sterk alkalioppløsning av polysaccaridene ekstruderes i trådform ned i en syreoppløsning og den resulterende gel vaskes med vann og tørkes får man en nudleformet matvare.

Siden disse nudler er uoppløselige i vann og varmt vann kan de brukes til gryteretter og kinesiske retter. De vil ikke bryte sammen ved koking.

Innarbeidelse av ovenstående fibergel i f.eks. en masse for fremstilling av kunstig kjøtt vil forbedre tyggekonsistensen.

Som nevnt ovenfor vil tørkede gelartikler fremstilt i henhold til oppfinnelsen lett svulle opp og gå tilbake til opprinnelig fuktig tilstand ved nedsenkning i vann, og den våte gel vil ikke deformeres eller oppløses selv i koking i vann over lengere tid.

Videre byr oppfinnelsens fremgangsmåte på så forbedrede støpeegenskaper at man enkelt kan fremstille innviklede gjenstander. Oppfinnelsen har derfor en stor praktisk nytte.

Eksperiment 1.

Valg av oppløseliggjørende midler.

1. Forsøksmetode.

For utvelging av egnede oppløseliggjørende midler for polysaccaridene fremstilte man en vandig oppløsning av hver av de oppløseliggjørende reagenser som er oppført i tabell 1. Til denne oppløsning satte man polysaccaridene i et mengdeforhold på 5 vekt-% og de oppløseliggjørende virkninger ble iaktatt. Deretter ble hver av oppløsningsprøvene gelet på egnet måte og gelstyrken sammenliknet organoleptisk.

I de tilfelle hvor oppløsningsprøvene inneholdt natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd, bariumhydroksyd og maursyre ble de bragt til geling ved nøytralisasjon og gelene ble omhyggelig vasket med vann. Alle andre oppløsninger ble gelet ved vasking med vann.

2. Prøveresultater.

Resultatene av ovenstående prøver er oppført i tabell 1. De oppløseliggjørende midler i henhold til oppfinnelsen, d.v.s. sterke alkalier som natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd, bariumhydroksyd etc., kalsiumklorid, sinkklorid, trinatriumfosfat og tiocyanater som ammoniumtiocyanat, kaliumtiocyanat, kalsiumtiocyanat, natriumtiocyanat, bariumtiocyanat etc., viste seg å være særlig nyttige.

Tabell 1.

Nr.	Oppløseliggjørende midler Type	Konsentrasjon av vandig opp- løsning, vekt-%	Oppløselig- het	Gel- styrke
1	Natriumhydroksyd	0,05	+++	+++
2	Kaliumhydroksyd	0,05	+++	+++
3	Bariumhydroksyd	0,05	+++	+++
4	Ammoniumtiocyanat	25	+	++
5	Kaliumtiocyanat	25	+	++
6	Kalsiumtiocyanat	25	+	++
7	Natriumtiocyanat	25	+	++
8	Bariumtiocyanat	25	+	++
9	Kalsiumklorid	30	+	++
10	Sinkklorid	30	+	++
11	Trinatriumfosfat	0,05	+	++
12	Maursyre	Oppløselig i ren oppløsning	++	+
13	Dimetylsulfoksyd	Oppløselig i ren oppløsning	++	+
14	Formaldehyd	Oppløselig i ren oppløsning	++	+
15	Urea	Oppløselig i ren oppløsning	+	+
16	Tiourea	Oppløselig i mettet oppløs- ning	+	+
17	Kaliumjodid	25	+	+
18	Kalium merkuri jodid	25	+	+

(Bemerk) Større antall pluss-tegn angir mer tilfredsstillende resultat.

Eksperiment 2.

1. Prøvemetode.

For å måle gjennomtrengelighetsgraden for oksygen for filmen i henhold til oppfinnelsen ble den spiselige filmen (20 mikron tykk) fremstilt etter fremgangsmåten i eks. 1, samt kontrollfilmer, underkastet en sammenliknende prøve. Sammenlikningsfilmene var polyetylen- og cellofan-filmer med samme tykkelse og man benyttet en gass-permeabilitets-testemaskin fremstilt av Toyo Tester Kogyo K.K. Prøvefilmen i henhold til oppfinnelsen var luktfri, smaksfri, skin-

nende, varmeforseglbar og mer bøyelig og bøyningsbestandig enn cellofanfilmer med samme tykkelse.

2. Prøveresultater.

Resultatene av ovenstående prøver er oppført i tabell 2. Man vil se at filmer ifølge oppfinnelsen er noe mer gjennomtrengelig for oksygen enn cellofan men mer ugjennomtrengelig enn polyetylen. Filmen hører således til den generelle kategori nesten ugjennomtrengelige filmer.

Tabell 2.

Type			
Henstand (i minutter)	Polyetylen	Film ifølge oppfinnelsen	Cellofan
2	0,061	-	-
4	0,121	-	-
6	0,180	-	-
8	0,237	-	-
10	0,286	0,120	0,072
12	0,366	-	-
14	0,406	-	-
20	-	0,256	0,111
30	-	0,334	0,132
40	-	0,376	0,151
50	-	0,406	-
60	-	0,424	0,178
70	-	0,448	-
80	-	-	0,190

(Bemerk) Tallene i tabellen er i mmHg.

Ekspperiment 3.

1. Prøvemethode.

PS-B ble oppløst i forskjellige konsentrasjoner i 0,5%-ige NaOH-oppløsning. Det riktige konsentrasjonsområdet ble bedømt ut fra utstøpningsegenskapene ved nøytralisering.

2. Resultater.

Resultatene er oppført i tabell 3 og den mest passende konsentrasjon faller innenfor ca. 1 til 10% (w/v).

Tabell 3.

PS-B (%)	Formingsegenskaper
0,5	Alkalioppløsningens viskositet er for lav til å danne gode produkter.
1-10	God
11-20	Alkalioppløsningens viskositet er for høy til å danne formede gjenstander.
21-	Danner vanskelig formede gjenstander.

Eksempel B-1.

Til 1 liter 0,6 vekt-%-ig vandig oppløsning av natriumhydroksyd settes 50 g PS-B og blandingen røres jevnt og blir deretter avgasset under nedsatt trykk, og man har en 5%-ig polysaccaridoppløsning. Denne transparente viskøse oppløsning helles ut i jevn tykkelse på mellom 0,1 og 1,0 mm på en glassplate og nøytraliseres til gel ved nedsenkning i 1%-ig vandig HCl-oppløsning.

Den resulterende transparente gelfilm tas opp av den sure oppløsning, vaskes grundig med vann og tørkes ved lav temperatur på egnet måte. Ovenstående fremgangsmåte gir ca. 45 g spiselig film som er transparent, skinnende og varmeforseglbar.

Eksempel B-2.

Til 1 liter 0,1 vekt-%-ig vandig oppløsning av natriumhydroksyd settes 100 g PS-B, og blandingen røres jevnt til polysaccaridet er oppløst. Den resulterende oppløsning avgasses under nedsatt trykk, til en 10%-ig polysaccaridoppløsning. Den klare viskøse oppløsning ekstruderes gjennom en ringformet dyse i 1%-ig vandig eddiksyre, og oppslemmingen nøytraliseres til gel.

Det transparente gelrør som derved fremstilles tas opp av syrebadet og vaskes grundig med vann. Deretter innføres luft i røret og røret blir i oppblåst tilstand tørket ved lav temperatur på egnet måte. Fremgangsmåten gir ca. 90 g spiselige rør som er egnet som pølseskinn.

Eksempel B-3.

30 g PS-B og 30 g amylose settes til 1 liter 2 vekt-%-ig vandig natriumhydroksyduppløsning og blandingen røres grundig og avgasses under nedsatt trykk til en klar viskøs oppløsning. Oppløsningen helles ut til et tynt flatt sjikt med jevn tykkelse på en glassplate og nøytraliseres til gel ved nedsenkning i 1%-ig vandig HCl-oppløsning.

Den gjennomskinnelige gelfilm tas opp av syrebadet, vaskes grundig med vann og tørkes ved lav temperatur på egnet måte. Ovenstående fremgangsmåte gir ca. 54 g spiselig film som er gjennomskinnelig, skinnende og varmeforseglbar.

Eksempel B-4.

Til 1 liter 25 vekt-%-ig vandig oppløsning av kalsiumtiocyanat settes 100 g PS-B, og blandingen røres jevnt og blir deretter avgasset under nedsatt trykk til en 10%-ig polysaccaridoppløsning. Den klare viskøse oppløsning helles ut til et tynt sjikt på glassplate og nedsenkes i vann. Gelen tørkes ved lav temperatur på egnet måte og man har ca. 90 g gjennomsiktig film, skinnende og varmeforseglbar.

Eksempel B-5.

50 g PS-B og 15 g potetstivelse settes til 1 liter 2-vekt-%-ig oppløsning av natriumhydroksyd som røres til en jevn blanding og avgasses under nedsatt trykk. Den viskøse oppløsning man får dryppes gjennom en dyse med 2 mm's åpninger ned i en 5 vekt-%-ig vandig HCl-oppløsning hvor oppløsningen nøytraliseres til gel. De små gelkuler som man får på denne måten tas opp av syrebadet og vaskes grundig med vann. Fremgangsmåten gir ca. 1 kg transparente gelkuler som måler 3 til 4 mm i diameter.

En passende mengde slike kuler anbringes i en form med volum som fiskerogn og oppvarmes hurtig fulgt av en avkjøling. Ovenstående fremgangsmåte gir et ferskrognformet produkt i gelform hvor de opprinnelige enkelte kuler har beholdt sin kuleform. Når dette produktet dyppes i egnet kryddervæske får man en krydret kunstig rogn (eller drueklase).

Eksempel B-6.

Til 1 liter 30 vekt-%-ig vandig oppløsning av sinkklorid settes 100 g PS-B og blandingen røres til en jevn masse og blir avgasset under nedsatt trykk til 10%-ig polysaccaridoppløsning. Den viskøse oppløsning dryppes ut i vann gjennom en dyse med 2 mm's åpninger og man får en oppløsning som geler til små kuler med 3 til 4 mm's diameter. Utbytte: ca. 1 kg. Dette produktet kan brukes som egnet bæremateriale eller konsistensmateriale til forskjellige anvendelser. Typisk blir kulene dyppet i en oppløsning som inneholder vannoppløselige næringsstoffer eller smakstilsetninger for begge medikamenter og de således impregnerte kuler lufttørkes.

Eksempel B-7.

30 g PS-b og 30 g potetstivelse settes til 1 liter 2 vekt-%-ig vandig natriumhydroksydoppløsning som røres til en jevn blanding og deretter avgasses under nedsatt trykk til en viskøs oppløsning. Oppløsningen ekstruderes gjennom en dyse med åpning 0,5 mm i diameter ut i en 5%-ig vandig HCl-oppløsning, hvorpå oppløsningen nøytraliseres til en gel i form av fibere. Geltrådene tas opp av syrebadet, vaskes grundig med vann og tørkes på vanlig måte. Ovenstående fremgangsmåte gir ca. 54g nudleformet næringsmiddel.

Eksempel B-8.

40 g PS-A oppløses i 1 liter 1 vekt-%-ig natriumhydroksydoppløsning som røres til en blanding og avgasses, 20 ml av oppløsningen fylles i et cellofanrør, 15,9 mm i diameter, og dialyseres 1 time i 4 %-ig eddiksyreoppløsning, hvilket gir ca. 900 g nesten gjennomsiktig og jevn gel. Denne gel nedsenkes i en blanding oppløsning av natriumglutamat, og NaCl og gir et slags marinert næringsmiddel. 1 cm. tykke skiver av gel-næringsmidlet har en gelstyrke på 826×10^3 dyn/cm² målt i trykkmåleren.

Eksempel B-9.

På samme måten som i eksempel B-8, hortsett fra at polysaccaridet er curdlan, får man en saltet matvare. Gelstyrken er 635×10^3 dyn/cm².

Eksempel B-10.

Til 10 kg avfettet soyamel settes 100 kg vann og blandingen røres ved en væsketemperatur på 40°C i en time. Fjernelse av tørrstoffet gir et proteinekstrakt. Ekstraktet innstilles på 4,5 med 10%-ig saltsyre og fellingen oppsamles ved sentrifugering og vaskes ved dispersjon i vann og sentrifugering på nytt, hvorpå man har 8 kg syreutfelt proteinmasse med fuktighetsinnhold på 66%. Til denne masses settes 8,9 kg vann og 0,25 kg polysaccarid PS-B og blandingen røres i en homogenisator til en jevn oppslemming. Til oppslemmingen settes 2,3 kg 10%-ig vandig natriumhydroksydoppløsning for fremstilling av en alkali-oppløseliggjort oppløsning med pH 12. Under svak røring holdes oppløsningen ved en væsketemperatur på 40°C i 20 minutter og den således kondisjonerte oppløsning avskummes på vanlig måte. Ovenstående fremgangsmåte gir en oppløsning med spinnbar eller trådtrekkbar viskositet. Denne

spinneoppløsning ekstruderes gjennom en spinndyse med åpning 0,1mm i diameter ned i et koagulasjonsbad av syre og salt inneholdende 3% eddiksyre og 12% natriumklorid. De syrekoagulerte proteinfibrene nøytraliseres ved dypping i 0,4%-ig vandig oppløsning av natriumbikarbonat til en pH-verdi på 5,3 er nådd, hvorefter fibrene vaskes med vann, dehydreres ved pressing over gummivalser. Ovenstående fremgangsmåte gir 6,5 kg spiselige proteinfibere med fuktighetsinnhold 62%.

Enten som sådan eller etter oppvarming under lukke gir ovenstående spiselige proteinfibere en myk, seig og glatt følelse i munnen, kan lett bites av og har tilfredsstillende utseende.

Eksempel B-11.

Til 5 kg syrekasein settes 17,5 kg vann og blandingen røres i en homogenisator til en homogen kaseindispersjon. Til dispersjonen settes 1,6 kg 10%-ig vandig natriumhydroksydoppløsning og blandingen røres forsiktig til en alkalisolibilisert oppløsning. Oppløsningen hensettes ved en væsketemperatur på 40°C i 20 minutter og kondisjoneres. Separat blandes 5,2 kg vann og 0,3 kg PS-B-polysaccharid og blandingen røres i en homogenisator til en homogen polysaccharid-dispersjon. Til denne dispersjon settes 0,5 kg 10%-ig vandig natriumhydroksydoppløsning og blandingen røres forsiktig til en jevn alkalisk oppløsning av polysaccharid PS-B. Den alkaliske polysaccharid-PS-B-oppløsning settes til den kondisjonerte kaseinoppløsning fremstilt ovenfor og det hele røres jevnt og avskummes. Ovenstående fremgangsmåte gir en spinneoppløsning med pH 10. Denne spinneoppløsning ekstruderes gjennom en spinndyse med åpninger 0,12mm i diameter ned i et syre-salt-koagulasjonsbad (vandig oppløsning) inneholdende 10% eddiksyre og 10% natriumklorid, og det resulterende "tau" nøytraliseres til pH 5 ved dypping i 0,15%-ig vandig natriumbikarbonatoppløsning. Tauet vaskes grundig med vann og dehydreres ved pressing over gummivalser. Man får 10,5 kg spiselige proteinfibere med fuktighetsinnhold 60%.

Enten som sådan eller etter oppvarming under lukke gir ovenstående proteinfibere en myk, strekkbar men glatt følelse i munnen, kan lett bites av og har et hvitt brukbart utseende.

Eksempel B-12.

Til 5 kg syrekasein settes 22,7 kg vann og 0,3 kg polysaccharid-PS-A og blandingen røres i en homogenisator til en homogen dispersjon. Til denne dispersjon settes 2,1 kg 10%-ig vandig

natriumhydroksydoppløsning og blandingen røres forsiktig for fremstilling av en alkalisolibilisert oppløsning. Oppløsningen hen-settes ved en væsketemperatur på 40°C i 20 minutter, slik at den aldres eller kondisjoneres og blir deretter avskummet. Ovenstående prosess gir en spinneoppløsning med pH 10. Spinneoppløsningen ekstraheres gjennom en spinndyse med åpninger 0,12mm i diameter ned i et syre-salt-koagulasjonsbad inneholdende 10% eddiksyre og 10% natriumklorid, og det resulterende "tau" nøytraliseres til pH 5 ved dypping i 0,15%-ig vandig natriumbikarbonatoppløsning.

Tauet vaskes grundig med vann og dehydreres ved avpressing over gummivalser. Man får 10,5 kg spiselig proteinfibere med et fuktighetsinnhold 60%.

Eksempel B-13.

Til 10 kg lav-denaturert solvent-ekstrahert soyabønne-mel settes 100 kg vann og blandingen røres ved en væsketemperatur på 40°C i 1 time. Etter fjerning av tørrstoffet har man protein-ekstrakt. Ekstraktet reguleres til pH 4,5 med 10%-ig saltsyre og den resulterende felling oppsamles ved sentrifugering og blir vasket ved dispersjon i vann og sentrifugert på nytt, hvilket gir 8,5 kg syreutfelt ostemasse med et fuktighetsinnhold 64%. Til denne massen settes 13,4 kg vann og 0,4 kg polysaccarid-curdlan og blandingen røres i en homogenisator til en jevn oppslemming. Til oppslemmingen settes 2,5 kg 10%-ig vandig natriumhydroksydoppløsning for fremstilling av en alkali-oppløseliggjort oppløsning. Denne oppløsning hensettes ved en væsketemperatur på 40°C i 20 minutter og den således kondisjonerte oppløsning formes på kjent måte. Ovenstående fremgangsmåte gir en spinnoppløsning med spinnbar viskositet. Spinneoppløsningen ekstruderes gjennom en spinndyse med åpninger 0,12mm i diameter i et syre-salt-koagulasjonsbad inneholdende 3% eddiksyre og 12% natronklorid. De syrekoagulererte proteinfibrene nøytraliseres ved dypping i 0,4%-ig vandig natriumbikarbonat-oppløsning til en pH på 5,5, hvorefter man vasker grundig med vann, dehydrerer ved avpressing av vannet over gummivalser. Ovenstående fremgangsmåte gir 8 kg spiselige protein-fibre med fuktighetsinnhold 67%.

Enten som sådanne eller etter oppvarming i lukket beholder gir ovenstående spiseprotein en myk, strekkbar og glatt følelse i munnen, kan lett bites av har tilfredsstillende utseende.

135965

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte til fremstilling av formede polysakkaridprodukter, k a r a k t e r i s e r t v e d at man ved en temperatur på ikke over 60°C under hele fremgangsmåten oppløser et polysakkarid til et innhold av 1-10 % (vekt/volum), hvilket polysakkarid har evne til i varme å danne en gel i en konsentrasjon på ikke under 1 % (vekt/volum) og hovedsakelig består av β -1,3-glukoseenheter, i en oppløsning som inneholder et oppløseliggjørende middel som kan være natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd, bariumhydroksyd, ammoniumtiocyanat, kaliumtiocyanat, kalsiumtiocyanat, natriumtiocyanat, bariumtiocyanat, kalsiumklorid, trinatriumfosfat eller sinkklorid, og at man deretter minsker innholdet av dette oppløseliggjørende middel i oppløsningen ved diffusjon eller nøytralisering, hvorved polysakkaridet bringes til å geldannes i en forutbestemt form.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at diffusjonen utføres som dialyse.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at diffusjonen utføres ved neddypping i vann.