



Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 23.XII.1965 (P 112 168)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 25.II.1967

Kl. 30 h, 6

MKP A-61-k

C12b 3/00
CZYTELNIA

Urząd Patentowy
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórca wynalazku: mgr in. Bronisław Habaj

Właściciel patentu: Instytut Przemysłu Mleczarskiego, Warszawa (Polska)

Sposób wytwarzania peptonu do podłoży bakteriologicznych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania peptonu do podłoży bakteriologicznych przy użyciu białek mleka z zakwasu kefirowego oraz grzybków kefirowych i zastosowaniu ich enzymatycznej hydrolizy przez enzymy proteolityczne.

Wiadomym jest, że wartość i przydatność peptonu zależy od wyjściowego substratu jakimi są białka poddane hydrolizie oraz warunków i sposobu hydrolizy.

Znany jest sposób otrzymywania peptonu bakteriologicznego na zasadzie hydrolizy enzymatycznej, w którym surowcem wyjściowym są białka kazeiny kwasowej, lecz okazało się, że są one uboższe w niektóre aminokwasy, od białek mleka nie poddawanego oddzielaniu kazeiny od innych białek mleka jakimi są albuminy i globuliny. Mleko odtłuszczone używane do hodowli grzybków kefirowych zawiera pełniejszy skład aminokwasów, a między nimi aminokwasy siarkowe jak cystyna, cysteina, metionina.

Mleko na którym hodowane są grzybki kefirowe, jak również same grzybki zawierają komórki drożdżowe, które ulegają autolizie i enzymatycznej hydrolizie wzbogacając tym samym pepton w aminokwasy oraz w witaminy B₁ i B₂, których praktycznie pozbawiona jest czysta kazeina.

Aminokwasy, a w szczególności peptydy siarkowe i witaminy są niezbędnymi składnikami peptonu bakteriologicznego warunkującymi wzrost drobnoustrojów oraz możliwie pełne ich ujawnie-

2

nie się przy kontroli produktów spożywczych w formie wzrostu na podłożu bakteriologicznym, którego niezbędnym składnikiem jest pepton.

5 Znane sposoby hydrolizy kazeiny przeprowadza się za pomocą takich enzymów jak: trypsyna, pepsyna, pankreatyna, papaina.

Sposób według wynalazku polega na tym, że częściowo kwaśną hydrolizę białek mleka wywołaną przez mikroflorę grzybków kefirowych uzupełnia się łagodną hydrolizą enzymatyczną za pomocą kompleksu enzymów trawiennych zawartych w gruczole wewnętrznego wydzielania jakim jest trzustka wołowa. Tkanka gruczołu trzustkowego ulega również hydrolizie przez enzymy rodzime gruczołu i w ten sposób uzupełnia skład amino-
15 kwasowy i peptydowy peptonu kefirowego w produkty degradacji samej tkanki trzustki.

20 Proces hydrolizy białek kefirowych odbywa się w ten sposób, że zakwas kefirowy wraz z grzybkami poddaje się hydrolizie za pomocą enzymów trzustki wołowej z dodatkiem korzystnie 20% roztworu Na₂ CO₃, co najmniej 0,5% chloroformu oraz chlorku wapnia, w temperaturze do 45°C, w ciągu około 72 godzin przy wartości pH w granicach 3,2 do 8,5, otrzymany hydrolizat ogrzewa się do wrzenia doprowadzając następnie pH za pomocą kwasu mlekowego do wartości 6,8—7, po czym
25 w celu oddzielenia białek traktuje ponownie chloroformem i dekantuje bądź filtruje a otrzymany przesącz oczyszcza węglem aktywnym i w znany
30

sposób sterylizuje lub suszy w aparaturze rozpyłowej.

Wytworzony pepton zawiera do 17 wolnych aminokwasów, w tym 7 niezbędnych takich jak: lizyna, treonina, metionina, walina, fenyloalanina, izoleucyna i leucyna.

Przykład. Zakwas kefirowy zawierający 3 do 4% grzybków kefirowych ogrzewa się do temperatury 60—70°C. Po odstaniu oddziela serwatke tak aby pozostała gęstwa kefirowa stanowiła $\frac{1}{4}$ do $\frac{1}{3}$ pierwotnej objętości zakwasu. Uzyskaną gęstwę kefirową zwaną substratem poddaje się dokładnemu rozpiciu za pomocą mieszadła mechanicznego, ochładza do temperatury około 45°C i miesza z 20% wodnym roztworem Na_2CO_3 aż do uzyskania wartości $\text{pH}=8,2 - 8,5$. Następnie, w proporcji na 1 litr substratu dodaje się 3 ml 1 M Ca Cl_2 , 100—120 g zmielonej trzuskii świeżo wydobytej po uboju oraz 5 ml chloroformu. Proces hydrolizy odbywa się w temperaturze 40 do 45°C przy stałym mieszaniu przez pierwsze 5 godzin, a następnie w kilku minutowych odstępach od 1 do 2 godzin i trwa co najmniej 72 godziny przy ciągłym korygowaniu wartości pH do poziomu 8,2—8,5 za pomocą 20% Na_2CO_3 , przy czym w okresie pierwszych 8 godzin regulację tę należy dokonywać co dwie godziny.

Przebieg hydrolizy kontroluje się przyrostem oraz zawartością azotu aminowego metodą formolową. Ilość ml zużytego 0,1 N NaOH pomnożona przez 1,4 daje zawartość azotu aminowego w danej próbce, którą z kolei przelicza się na wartości procentowe.

W dalszym ciągu procesu wytwarzania otrzymany hydrolizat ogrzewa się w temperaturze wrzenia w ciągu 5 minut, następnie szybko ochładza do temperatury 20°C i zlewa do wysokich naczyń w celu osadzenia się wytrąconych części białek, a po

2 godzinach dekantuje i doprowadza za pomocą 20% kwasu mlekowego do wartości pH w granicach 6,8—7. Następnie na każdy litr hydrolizatu dodaje się 0,5% chloroformu, miesza i pozostawia w temperaturze 10 do 15°C w celu osadzenia resztek białka. Po 12 do 20 godzinach klarowania sączy się otrzymany hydrolizat przez filtry Seitza z wkładką filtracyjną o gradacji K-00. Dalsze oczyszczenie od zawartości związków Maillarda, odbywa się za pomocą 10 minutowego wytrząsania z dodatkiem 0,1% pylistego węgla aktywnego, po czym sączy przez filtr bibułowy. Uzyskany pepton rozlewa do butelek, sterylizuje w temperaturze 121°C przez 10 minut względnie suszy w aparaturze rozpyłowej.

Otrzymany w ten sposób pepton jest produktem wysoce przydatnym przy sporządzaniu podłoży bakteriologicznych.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania peptonu do podłoży bakteriologicznych na drodze hydrolizy białek, **znamienny** tym, że zakwas kefirowy wraz z grzybkami poddaje się hydrolizie za pomocą enzymów trzuskii wołowej z dodatkiem korzystnie 20%-go roztworu Na_2CO_3 , co najmniej 0,5% chloroformu oraz chloru wapnia, w temperaturze do 45°C w ciągu około 72 godzin przy wartości pH w granicach 8,2 do 8,5, otrzymany hydrolizat ogrzewa się do wrzenia **doprowadzając następnie pH za pomocą kwasu mlekowego do wartości 6,8—7**, po czym w celu oddzielenia białek traktuje ponownie chloroformem i dekantuje bądź filtruje a otrzymany przesącz oczyszcza węglem aktywnym po czym w znany sposób sterylizuje lub suszy w aparaturze rozpyłowej.