【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成17年2月3日(2005.2.3)

【公表番号】特表2004-504853(P2004-504853A)
【公表日】平成16年2月19日(2004.2.19)
【年通号数】公開・登録公報2004-007
【出願番号】特願2002-516345(P2002-516345)
【国際特許分類第７版】
　Ｃ１２Ｐ　23/00
　Ａ２３Ｌ　 1/272
// Ｃ０７Ｃ　 7/14
　Ｃ０７Ｃ　13/20
 (Ｃ１２Ｐ　23/00
　Ｃ１２Ｒ　 1:645 )
【ＦＩ】
　Ｃ１２Ｐ　23/00
　Ａ２３Ｌ　 1/272
　Ｃ０７Ｃ　 7/14
　Ｃ０７Ｃ　13/20
　Ｃ１２Ｐ　23/00
　Ｃ１２Ｒ　 1:645

【手続補正書】
【提出日】平成15年1月29日(2003.1.29)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
カロテノイドの製造方法において、
（１）液内培養においてムコラーレス（Ｍｕｃｏｒａｌｅｓ）のバイオマスを発酵させる段階と、
（２）前記バイオマスを分離する段階と、
（３）アルコールを用いる抽出によって、カロテノイド以外の親油性物質を除去する事により前記バイオマスを精製する段階と、
（４）前記バイオマスを乾燥し、そして破砕する段階と、
（５）有機溶剤を用いて、前記バイオマスに含まれるカロテノイドを固体／液体抽出する段階と、
（６）カロチノイドの豊富な抽出物を濃縮する段階と、
（７）アルコールを添加することによりカロチノイドを沈降－結晶化する段階と、
（８）ろ過し、最終乾燥する段階と、
を含み、
前記段階（１）において培地にレシチンを添加し、且つ発酵の開始後にｐＨの調整を行い、このｐＨの調整が、
（ａ）ｐＨを６．６－７．２の範囲の調整し、且つ
（ｂ）ｐＨの調整を、発酵の２４～３６時間後に行なう、
ことを特徴とする方法。

【請求項２】
前記液内培養が、好気性条件下で実施され、前記ムコラーレスがブラケスラ（Ｂｌａｋｅｓｌｅａ）属、特にブラケスラ・トリスポラ（Ｂ．ｔｒｉｓｐｏｒａ）に属し、得られるカロテノイドがβ－カロテンであることを特徴とする、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
大豆レシチンが０．１－１０％、望ましくは０．５－５％、より望ましくは０．５－１．５％の割合で添加されることを特徴とする、請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
（＋）及び（または）（－）株、またはブラケスラ・トリスポラ（Ｂ．ｔｒｉｓｐｏｒａ）から選択される突然変異株が培養されることを特徴とする、請求項２に記載の方法。
【請求項５】
発酵中の温度が２０－３２℃の間である、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
カロテン以外の親油性物質を取り除くための前記バイオマス精製の段階（３）が、カロテノイド溶解度の低いアルコール、好ましくはメタノール、エタノール、プロパノール又はイソプロパノール中にバイオマスを懸濁することから成ることを特徴とする、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記バイオマスの精製の段階（３）が、段階（１）の直後に前記培地自体の中で実施されるか、あるいは段階（２）の後で、前記培地から分離した後実施されることを特徴とする、請求項１に記載の方法。
【請求項８】
添加されるアルコールの量が湿菌糸当り１ｍｌ／ｇから１０ｍｌ／ｇまでの範囲にあり、懸濁中の温度が周囲温度と添加されるアルコールの沸点の間であり、接触時間が５時間から２４時間までであることを特徴とする、請求項１、６及び７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９】
前記バイオマス精製が、培養液に対して直接行なわれ、培養液：アルコール比率が１：０．５～１：５の間にあることを特徴する、請求項７に記載の方法。
【請求項１０】
前記バイオマス乾燥－粉状化段階（４）が、酸素なしで、周囲温度及び１５０℃の間の温度で、１時間から７２時間までの時間、バッチ式に又は連続式に実施することができることを特徴とする、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
前記バイオマス破砕が、３ｍｍ未満の粒度に達するまで常法によって行なわれることを特徴とする、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記バイオマス精製に使用される前記アルコールが、メタノール、エタノール、プロパノールまたはイソプロパノールまたはこれらの混合物の中から選択されることを特徴とする、請求項１～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１３】
前記抽出段階（５）が、１回から３回までの間で反復され、周囲温度と溶剤の沸点との間の温度で、１秒から１時間までの間の時間、５ｍｌ／ｇから２０ｍｌ／ｇまでの間の量で、低毒性の有機溶剤を使って乾燥され破砕されたバイオマスを洗浄することから成り、カロテノイド含有量が８５％を超え、望ましくは９０％を超え、より望ましくは９５％を超えるカロテノイドの豊富な抽出物が得られることを特徴とする、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
前記抽出段階（５）において使用される前記溶剤が、アシルエステル、望ましくは酢酸エチル、プロピル、イソプロピル、ブチルまたはイソブチルまたはその混合物から成ること

を特徴とする、請求項１～１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
前記カロテノイド豊富な抽出物が、１０～４０ｇ／ｌ程度のカロテノイド濃度に達するまで８０℃未満の温度で１時間未満の時間、従来の手段による濃縮段階（５）に付されることを特徴とする、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】
前記カロテノイド豊富な抽出物が、２５℃未満の結晶化温度で、１５分から２４時間の間での結晶化時間の間、前記抽出段階（６）において使用される前記溶剤の体積に対して１／１から１／６の比率でアルコールを添加することにより、沈降－結晶化段階（７）に付されることを特徴とする、請求項１～１５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７】
前記ｐＨの調整が、発酵が開始され後２４時間～３６時間の間に行なわれることを特徴とする、請求項１～１６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８】
前記ｐＨ調整が、発酵開始後２４時間から３６時間までの間、６．７－６．９の範囲で行なわれることを特徴とする、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
β－カロテンと酸化防止剤との混合物の、着色剤としての使用。
【請求項２０】
前記混合物が更に、様々なタイプのスターチ、大豆油、コーン油またはオリーブ油を含んで成る、請求項１９に記載の使用。
【請求項２１】
前記酸化防止剤が、アスコルビルパルミテート又はトコフェロールである、請求項１９又は２０に記載の使用。