



URZĄD  
PATENTOWY  
PRL

# OPIS PATENTOWY

53106

Patent dodatkowy  
do patentu \_\_\_\_\_

Zgłoszono: 26.I.1966 (P 112 642)

Pierwszeństwo: \_\_\_\_\_

Opublikowano: 31.III.1967

Kl. 6 b, 16/03

MKP C 12 d

13/00

WŁOBYTELNIA

Urzędu Patentowego  
PRL

Współtwórcy wynalazku: dr Zdzisław Pażoła, mgr Henryk Switek, prof.  
dr Józef Janicki, mgr Wanda Michnikowska

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

## Sposób otrzymywania karotenu metodą fermentacji

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania karotenu metodą głębokiej fermentacji aerobowej, za pomocą skojarzonej hodowli seksualnie przeciwstawnych szczepów pleśni z rodziny Choanephoraceae, na płynnym podłożu zawierającym normalne składniki odżywcze, a więc: białka, węglowodany, tłuszcze, witaminy i sole mineralne oraz węglowodory, polegający na zastosowaniu jako źródła substancji tłuszczowych odpadowych produktów przemysłu olejarskiego — uzyskiwanych w procesie odolejania ziemi bielącej, zwanych olejami autoklawowymi.

Proces biosyntezy karotenu za pomocą skojarzonej hodowli pleśni z rodziny Choanephoraceae, szczególnie szczepów *Blakeslea trispora* NRRL 9216 (+) i NRRL 9159 (—), jest opisany w literaturze, przy czym w skład podłoża wchodzi, jako źródło substancji tłuszczowych, naturalnie występujące oleje roślinne lub tłuszcze zwierzęce. Na przykład w *Applied Microbiology*, tom 12, nr 2, strona 150—154, 1964 rok, zaleca się stosowanie takich olejów roślinnych, jak sojowy, bawełniany i kukurydziany, a według opisu patentowego Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 3025221 zaleca się stosowanie białego smalcu.

Stosowanie olejów roślinnych lub tłuszczów zwierzęcych jako składników podłoża w procesie fermentacji karotenowej wpływa korzystnie na przebieg biosyntezy karotenu, dzięki dostarczeniu odpowiednich kwasów tłuszczowych, potrzebnych

2

do asymilacji tłuszczu przez tworzącą się w procesie masę grzybną.

Stwierdzono, że dużo lepszym od normalnie występujących olejów roślinnych źródłem substancji tłuszczowych są produkty uzyskiwane ubocznie w przemyśle olejarskim przy odolejaniu ziemi bielącej. Produkty te zwane powszechnie olejami autoklawowymi posiadają na skutek uprzedniego poddania ich specyficznej obróbce fizyko-chemicznej, nie tylko korzystny układ kwasów tłuszczowych ale przede wszystkim, w porównaniu z naturalnie występującymi olejami roślinnymi, zawierają duże ilości chlorofilu i jego pochodnych, karotenoidów i substancji pokrewnych, oraz różnych substancji śluzowatych i innych aktywnych składników — będących stymulatorami biosyntezy karotenu, a które łącznie z zawartymi kwasami tłuszczowymi wpływają niezmiernie korzystnie na podwyższenie wydajności grzybni i karotenu w procesie fermentacji.

Według wynalazku, zastosowanie dodatku produktów ubocznych, uzyskiwanych przy rafinacji olejów roślinnych, zwanych olejami autoklawowymi, w ilości 3—6% objętościowych do płynnego podłoża zastępuje nie tylko całkowicie dodatek stosowanych dotychczas drogich olejów roślinnych, których cena była 6 do 7-krotnie wyższa od obecnego składnika, ale zarazem powoduje uzyskanie wyższej wydajności karotenu, średnio o około 30%.

Sposób według wynalazku wyjaśniają następujące przykłady.

Przykład I. Sporządza się płynne podłoże o następującym składzie:

|                                                          |        |                 |
|----------------------------------------------------------|--------|-----------------|
| Drożdże suszone                                          | 3      | części wagowe   |
| Kukurydza mielona                                        | 2,5    | części wagowych |
| Soja mielona                                             | 3      | części wagowe   |
| Nafta odwoniona                                          | 4      | części wagowe   |
| Chlorowodorek tiaminy                                    | 0,0002 | części wagowe   |
| Olej autoklawowy, uzyskany przy rafinacji oleju sojowego | 4,6    | części wagowych |
| Woda wodociągowa                                         | 95     | części wagowych |

Powyższe podłoże sterylizuje się w temperaturze 121°C przez okres 45—60 minut, następnie ochładza się i zaszczepia 5—10% objętości płynnego inokulum, otrzymanego z 2-dniowej hodowli szczepów pleśni *Blakeslea trispora* NRRL 9216 (+) i NRRL 9159 (—). Po zaszczepieniu przeprowadza się fermentację wglębną przez okres 4—6 dni w temperaturze 26—28°C, w warunkach tlenowych — to znaczy przy stałym mieszaniu i napowietrzaniu podłoża sterylnym powietrzem w ilości 1/2—1 objętości powietrza /objętość podłoża/ minutę.

Po upływie 36—48 godzin fermentacji wprowadza się sterylnie dodatkowo beta- lub alfa-jonon w ilości 0,0935 części wagowych. Po osiągnięciu maksimum stężenia karotenu, co zachodzi najczęściej po upływie 5 dni fermentacji, oddziela się wytworzoną masę grzybni od brzeczki — na przykład za pomocą wirówki — a następnie suszy znanymi sposobami, na przykład za pomocą suszarki próż-

niowej. Otrzymany preparat karotenowy w postaci suchej grzybni służy bezpośrednio do witalizacji pasz lub podlega ekstrakcji znanymi sposobami w celu uzyskania olejowych roztworów karotenu do barwienia i witalizacji produktów spożywczych. Wytworzona w procesie biosyntezy ilość karotenu wynosi w przeliczeniu na objętość podłoża około 80 mg%.

Przykład II. Sporządza się płynne podłoże o następującym składzie:

|                                                          |        |                 |
|----------------------------------------------------------|--------|-----------------|
| Drożdże suszone                                          | 3      | części wagowe   |
| Srut poekstrakcyjny, sojowy                              | 3      | części wagowe   |
| Kukurydza mielona                                        | 2,5    | części wagowych |
| Nafta odwoniona                                          | 4      | części wagowe   |
| Chlorowodorek tiaminy                                    | 0,0002 | części wagowe   |
| Olej autoklawowy, uzyskany przy rafinacji oleju sojowego | 4,6    | części wagowych |
| Woda wodociągowa                                         | 95     | części wagowych |

Proces sterylizacji i dalszy przebieg procesu produkcji karotenu metodą biosyntezy odbywa się identycznie jak w przykładzie I.

Wytworzona w procesie biosyntezy ilość karotenu wynosi w przeliczeniu na objętość podłoża około 85 mg%.

Porównawcze wydajności karotenu uzyskane w warunkach laboratoryjnych na podłożach o składzie podanym w powyższych przykładach, oraz na podłożach z dodatkiem stosowanego dotychczas oleju sojowego, ujęte są w poniższej tablicy:

| Rodzaj i źródło tłuszczu dodanego do podłoża<br>(w ilości 5% objętościowych) | Ilość suchej grzybni<br>wg/100 ml<br>podłoża | Stężenie karotenu<br>w suchej grzybni<br>w mg/g | Wydajność karotenu<br>w stosunku<br>do podłoża<br>w mg % | Wskaźnik wzrostu wydajności karotenu<br>w procesie |
|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Olej sojowy rafinowany                                                       | 6,4                                          | 9,75                                            | 62,4                                                     | 100                                                |
| Olej autoklawowy, uzyskiwany przy rafinacji oleju sojowego                   | 7,45                                         | 10,45                                           | 77,8                                                     | 124,7                                              |
| Olej autoklawowy, uzyskiwany przy rafinacji oleju lnianego                   | 8,95                                         | 9,62                                            | 86,1                                                     | 137,9                                              |

#### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania karotenu metodą wglębnej fermentacji aerobowej, za pomocą skojarzonej hodowli seksualnie przeciwnych szczepów pleśni z rodziny *Choanephoraceae* na przykład szczepów *Blakeslea trispora* NRRL 9216 (+) i NRRL 9159 (—) na płynnym podłożu, zawierającym normalne składniki odżywcze, a więc białka, węglowodany, tłuszcze, węglowodory oraz potrzebne witaminy i substancje mineralne, **znamienny tym**, że fermentację prowa-

dzi się na podłożu zawierającym jako źródło substancji tłuszczowych oraz czynnika stymulującego proces biosyntezy karotenu 3—6% objętościowych w stosunku do podłoża olejów autoklawowych, stanowiących uboczny produkt przemysłu olejarskiego.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako źródło substancji tłuszczowych oraz czynnika stymulującego proces biosyntezy karotenu stosuje się oleje autoklawowe, uzyskane w wyniku odolejania ziemi bielącej, zastosowanej do rafinacji oleju sojowego lub lnianego.