

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



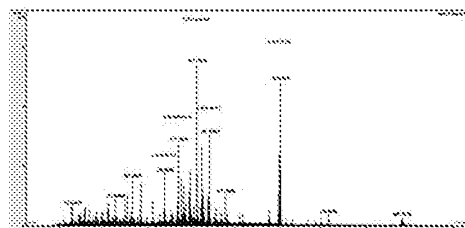
ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2021-89
(22) Přihlášeno: 28.02.2021
(40) Zveřejněno: 18.05.2022
(Věstník č. 20/2022)
(47) Uděleno: 06.04.2022
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: 18.05.2022
(Věstník č. 20/2022)

C09B 61/00 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12R 1/80 (2006.01)

- (56) Relevantní dokumenty:
JIN, Hong-Jie et al. Chemical composition, security and bioactivity of the red pigment from *Penicillium purpurogenum* Li-3. *Chemistry & Biodiversity*, 2018, Vol. 15, No. 12, p. e1800300, ISSN 1612-1872; PADMAPRIYA, C et al. Characterization of methanolic extract of red pigment from *Penicillium purpurogenum* and its antioxidant activity. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 2016, Vol. 10, No. 2, p. 1505-1510, ISSN 0973-7510; DHALE, Mohan A. et al. Pigment and amylase production in *Penicillium* sp NIOM-02 and its radical scavenging activity. *International Journal of Food Science & Technology*, 2009, Vol. 44, No. 12, p. 2424-2430, ISSN 0950-5423.
CZ 302696 B6; CZ 285721 B6; WO 2012022765 A1.

- (73) Majitel patentu:
Gurgen Sardaryan, Pardubice, Zelené Předměstí,
CZ
Gesmed Biotec s.r.o., Praha 10, Vinohrady, CZ
(72) Původce:
Gurgen Sardaryan, Pardubice, Zelené Předměstí,
CZ
Garegin Sardaryan, Pardubice, Zelené Předměstí,
CZ
(74) Zástupce:
PATENTOVÁ KANCELÁŘ VYNÁLEZY.cz,
Mgr. Hana Jirkalová, Michelská 18/12a, 140 00
Praha 4



- (54) Název vynálezu:
Způsob výroby směsného pigmentu na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem a tento směsný pigment

- (57) Anotace:
Řešení se týká způsobu výroby směsného pigmentu na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem z kultivační biomasy kmenů mikroorganismů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374, zejména pro potravinářství, farmaci a kosmetiku, který je charakterizován tím, že výchozí biomasa obsahuje minimálně 10 % hmotn. směsi α a β glukánů, 3 % hmotn. niacinu, 7 % hmotn. kyseliny pantothenové a 1,5 % hmotn. pyridoxinu v sušině. Získaný směsný pigment vykazuje charakteristická maxima na spektrofotometrickém grafu z molekulové absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra při rozsahu vlnových délek 400 nm až 800 nm, a to ve vodném roztoku o hodnotě pH 7 až 7,5 dvě maxima, kdy první maximum na Lambda max_1 je $A = 494$ nm a druhé nejvyšší maximum na Lambda max_2 je $A = 420$ nm, a dvě maxima v roztoku alkoholu, kdy první maximum na Lambda max_1 je $A = 502$ nm a druhé nejvyšší maximum na Lambda max_2 je $A = 415$ nm.

Způsob výroby směsného pigmentu na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem a tento směsný pigment

5 Oblast techniky

Řešení se týká způsobu výroby směsného pigmentu na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem, který se používá zejména v potravinářství, farmacii a kosmetice.

10

Dosavadní stav techniky

15 V českém patentu 285721 je popsána mikroskopická houba *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242, získaná z půdy z údolí pod horou Ararat a v patentu 302696 se jedná o mikroskopickou houbu CCM 8374, obě produkující exogenní červený pigment s různými možnostmi použití v potravinářství, farmacii, kosmetice.

20 Při dosavadním využívání uvedených kmenů je dosahován výsledek nižších výnosností pigmentu a nestabilní kvality, což je nežádoucí.

Oba výše uvedené kmeny byly uloženy v mezinárodním ukládacím místě CCM, Česká sbírka mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně, CZ.

25

Podstata vynálezu

Výše uvedené nedostatky odstraňuje způsob přípravy směsného pigmentu na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem z kultivační biomasy kmenů mikroorganismů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že výchozí biomasa obsahuje minimálně 10 % hmotn. směsi α a β glukanu, 3 % hmotn. niacinu, 7 % hmotn. kyseliny pantothenové a 1,5 % hmotn. pyridoxinu v sušině.

35 Směsný pigment na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem, připravený z biomasy kmenů mikroorganismů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374, zejména pro potravinářství, farmacii a kosmetiku, podle vynálezu, je také podstatou vynálezu, která spočívá v tom, že vykazuje charakteristická maxima na spektrofotometrickém grafu z molekulové absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra při rozsahu vlnových délek 400 nm až 800 nm, a to ve vodném roztoku o hodnotě pH 7 až 7,5 dvě maxima, kdy první maximum na $\text{Lambda}_{\text{max}_1}$ je $\lambda = 494 \text{ nm}$ a druhé nejvyšší maximum na $\text{Lambda}_{\text{max}_2}$ je $\lambda = 420 \text{ nm}$, a dvě maxima v roztoku alkoholu, kdy první maximum na $\text{Lambda}_{\text{max}_1}$ je $\lambda = 502 \text{ nm}$ a druhé nejvyšší maximum na $\text{Lambda}_{\text{max}_2}$ je $\lambda = 415 \text{ nm}$.

45

Biomasa pro výrobu antioxidačních směsných pigmentů podle vynálezu při použití kmenů mikroorganismů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374 také obsahuje glukany v minimálním množství od 10 % hmotn.

50 Uvedené nové směsné pigmenty se vyrábějí tak, že se fermentuje inokulum a z něj se izolují pigmenty s antioxidačními účinky.

Směsné pigmenty podle vynálezu se využívají zejména v potravinářství, např. v uzeninách, jako doplněk stravy, dále ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, kde vyrobený produkt stabilizují a zbarvují. Antioxidační účinek těchto pigmentů podstatně prodlužuje použitelnost a

55

životnost všech výrobků, do kterých je přidán.

Směsné pigmenty podle vynálezu a jejich výroba umožňují získávat konečný produkt v opakovatelném stabilním složení, což dosud nebývá samozřejmé. Jejich výroba nyní probíhá za zvýšeného syčení fermentačního média vzduchem, úpravou fermentačního média pomocí kvasničného extraktu (např. HY YEST 412 Kerry) a úpravou velikosti pórů mikrofiltračního zařízení. Úpravou fermentačního procesu získáváme biomasu mycelia, která obsahuje zdraví prospěšné látky, neboť obsahuje minimálně 10 % hmotn. glukanu, viz obr. 2.

Objasnění výkresů

Na obr. 1 je znázorněno v grafu spektrofotometrické měření složení konečného základního výrobku (hmotnostní spektrofotometrie), což je červený pigment, a následující pigment fialový, oranžový, hnědý se stanoví chromatograficky.

Na obr. 2 jsou v grafu zobrazena FT-IR spektra houbového glukanu a mycelia *Penicillium oxalicum* a *Pleurotus* (hlíva ústříčná), kde plná linka znázorňuje glukany, ozdobná linka znázorňuje *Penicillium oxalicum*. Spektrum vzorku leží v rozsahu vlnočtů 4000 až 450 cm^{-1} s rozlišením 2 cm^{-1} . Jedná se o porovnání spektra houbového glukanu s glukany obsaženými v biomase *Penicillium oxalicum* var. *Armeniacae*.

Na obr. 3 je v grafu znázorněno spektrum z hmotnostního spektrofotometru z analýzy vzorku získaného z pokusné fermentace číslo 2 (natural red šarže 2 (NR)) provedené v Mikrobiologickém ústavu Akademie věd ČR, CZ.

Na obr. 4 je v grafu znázorněno spektrum z hmotnostního spektrofotometru z analýzy vzorku získaného z pokusné poloprovozní výroby z fermentace číslo 125 (natural red šarže 125 (NR)) stanovené ve Výzkumném ústavu potravinářském Praha, CZ.

Směsné pigmenty podle vynálezu byly v praxi ověřeny s dobrými výsledky v laboratořích Mikrobiologického ústavu AV ČR v Praze, CZ.

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1

Výroba směsných pigmentů podle vynálezu probíhá z biomasy obsahující minimálně 10 % hmotn. glukanu po fermentaci mikrobiálních kmenů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniacae* CCM 8242 a CCM 8374 podle základního výrobního schématu:

- RO příprava DEMI vody pro výrobu
- Vyvíječ páry a příprava ostré páry pro sterilizaci
- Kompresor vzduchu pro výrobu
- Sanitační zařízení
- Chladicí systém
- Mikrobiologická laboratoř, práce s kmenem a příprava inokula
- Biotechnologický fermentor – získání účinné látky
- Linka na zpracování produktu – odstředivka, MF, NF – Izolace účinné látky
- Sprejová sušárna – sušení produktu na vhodném nosiči

Celý fermentační proces probírá za sterilních podmínek.

Výroba začíná v mikrobiologické laboratoři, kde se aktivuje kmen mikroskopické houby *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374 z lyofilizovaného stavu. Rozočkuje se na Petriho misky a v termostatu při teplotě 28 až 29 °C kultivujeme po dobu 5 dnů.

5 Kritéria pro posouzení mycelia jsou

- jednotný sametový povrch mycelia
- mycelium v zelené barvě
- bohatá sporulace
- 10 • barva agaru pod myceliem sytě červená.

Z povrchu Petriho misky se seškrábne laboratorní kličkou stejnorodá hmota spor s myceliem a sterilně se přenese do erlenmeyerovy baňky o objemu 500 ml. Inokulum v baňkách se kultivuje na třepačce při otáčkách 220 až 240 ot./min po dobu 36 hodin až 48 hodin

15

Fermentační půdu pro inokulaci tvoří kvasničný extrakt (např. HY YEST 412 Kerry) v množství 6 g/l půdy, řepný cukr – sacharóza v množství 18 g/l půdy a hmota Agar-agar v množství 20 g/l půdy.

20 Získané vybrané inokulum se sterilně přenese do inokulačního fermentoru. Objem vsádky inokulačního fermentoru činí cca 0,1 % až 2 % objemu výrobního fermentoru.

Podmínky procesu v inokulačním fermentoru jsou následující:

25 Teplota uvnitř jednotky je 28 až 29 °C, tlak v jednotce je 0,02 až 0,03 MPa, spotřeba vzduchu činí 15 až 30 m³ vzduchu/m³ fermentačního média/h, míchání lopatkovým michadlem rychlostí 250 ot./min, hodnota pH půdy 5,8 až 6,2. Fermentační půdu pro inokulaci tvoří kvasničný extrakt HY YEST 412 Kerry v množství 6 g/l půdy, řepný cukr – sacharóza v množství 18 g/l půdy.

30 Je nutné zachovat činnost houby (aktivitu) v pravidelném očkovacím cyklu ve zkumavkách každé 3 měsíce. Houba musí být uchovávána při teplotě 3 až 5 °C.

Inokulum se kultivuje 36 až 48 hodin, mycelium musí být vatovité struktury s dlouhými vlákny a bohatou sporulací, rovnoměrně suspendované ve fermentačním médiu. Během fermentace se sleduje hodnota pH, množství barviva, množství biomasy mycelia a mikrobiální čistota vzorku – monokultura, plísně. Po uplynutí výše uvedené doby se sterilně převede inokulum do vysterilizované fermentační půdy ve výrobním fermentoru.

Podmínky procesu ve výrobním fermentoru jsou následující:

40

Objem inokula pro výrobní fermentor činí cca 0,1 % až 3 % objemu výrobního fermentoru.

Teplota uvnitř jednotky je 28 až 29 °C, tlak v jednotce je 0,07 až 0,08 MPa, spotřeba vzduchu činí 30 až 50 m³ vzduchu/m³ fermentačního média/h, míchání lopatkovým michadlem rychlostí 250 až 400 ot./min, hodnota pH půdy 5,8 až 6,2, rozpustnost kyslíku 80 až 100 %.

45

Fermentační půdu pro inokulaci tvoří kvasničný extrakt v množství 6 g/litr půdy HY YEST 412 Kerry, řepný cukr – sacharóza v množství 18 g/l půdy, odpěňovač PPG dle potřeby.

50 Mycelium se takto kultivuje 68 až 72 hodin, do vyčerpání sacharózy z živné půdy a během fermentace se sleduje hodnota pH, množství zbytkové sacharózy, množství barviva, množství biomasy mycelia a mikrobiální čistota vzorku – monokultura, plísně.

Po ukončení fermentace se zvýší skokově teplota ve fermentoru až na 45 °C až 50 °C a hodnota pH se upraví čpavkovou vodou na hodnotu pH 8,5 až 9,5 a míchá se rychlostí 35 až 40 ot./min.

55

Následují kroky finalizace, tj. odstranění mycelia pomocí odstředivky rychlostí 15 000 ot/min., případně na filtračním lisu, z fermentační kapaliny s žádaným produktem – červenými pigmenty. Obsah mycelia tvoří cca 3 až 5 % objemu vsádky. Následuje dočištění média od fragmentů mycelia a nerozpustných látek na mikrofiltračním zařízení (velikost pórů membrány je 0,45 až 0,60 µm) a v konečné fázi zkoncentrování produktu do objemu 1/10 objemu vsádky na nanofiltrační jednotce (velikost pórů 300 až 350 Daltonů).

Zkoncentrovaný produkt se následně sprejově suší na vhodném nosiči. Teplota nastříkovaného materiálu je 35 až 45 °C a hodnota jeho pH je 9,0 až 9,5. Teplota vzduchu na vstupu do sušicí komory je 200 °C a na výstupu ze sušicí komory 98 °C.

Výsledkem je červený prášek nahořklé chuti, současně s pigmentem fialovým, oranžovým a hnědým, které se stanoví chromatograficky.

Analýzou konečného výrobku – červeného pigmentu po fermentaci kmene *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374 při zachování optimálních podmínek fermentace byl zjištěn výtěžek 6 až 10 g červeného pigmentu/l média. Hodnota absorpce v souladu s metodou výpočtu navrhovaným FAO odpovídá hodnotě 1,05. V tomto případě se pro určení koncentrace červeného pigmentu používá vzorec

$$\% = \frac{100 \times A \times 100}{1,05 \times W},$$

kde značí

A hodnotu Lambda max. absorpce při 494 nm,

W hmotnost vzorku krystalického pigmentu 100 mg,

1,05 konstantní hodnotu absorpce.

Získaný červený pigment byl určen spektrometricky, a to použitím molekulové absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti elektromagnetického spektra s frekvenčním rozsahem 400 nm až 800 nm, kdy byla získána dvě charakteristická maxima ve vodném roztoku o hodnotě pH 7 až 7,5, přičemž první maximum na Lambda max₁ je A = 494, druhé nejvyšší maximum na Lambda max₂ je A = 420 nm.

Další spektrometrie byla provedena s alkoholovým roztokem červeného pigmentu, kdy první maximum na Lambda max₁ bylo A = 502 nm, druhé nejvyšší maximum na Lambda max₂ bylo A = 415 nm.

Na kvalitu (čistotu) pigmentu ukazuje hodnota A₁/A₂ = 1,3 až 1,5, při které je hodnota antioxidační aktivity AK = 2,65.

Kvalitu vyrobeného červeného prášku nahořklé chuti, současně s pigmentem fialovým, oranžovým a hnědým, dokládá graf na obr. 1.

Příklad 2

Výroba probíhala podle příkladu 1, ale s následujícími úpravami:

Jako zdroj dusíkatých látek ve fermentační půdě sloužil kvasničný extrakt HY-YEST 412 Kerry, při vzdušnění během fermentačního procesu bylo použito 30 až 50 m³ vzduchu/m³ fermentačního

média/h, při teplotě 28 až 29 °C a míchání při fermentaci rychlostí 250 až 400 ot./min, fermentované médium již po 22 hodinách vykazuje červené zbarvení. K ukončení fermentace dochází v 68. až 72. hodině. Pro finalizaci a zpracování produktu byla použita mikrofiltrace na membránách o velikosti pórů 0,45 až 0,60 µm a nanofiltrace na membránách o velikosti pórů 300 až 350 Daltonů.

Příklad 3

Biomasa pro výrobu směsných pigmentů podle vynálezu musí obsahovat minimálně 10 % hmotn. glukanů, aby měla očekávané dobré využití ve výživě pro zvýšený obsah glukanů.

Složení mycelia = biomasy (možno použít pro komplexní sušení) je zobrazeno v tabulce 1.

Tabulka 1

Obsah/faktor	mycelium	
		g/100 g sušiny
sušina		
popel		6,5
tuk		3,9
bílkoviny		32,1
celková vláknina potravy		37,0
rozpustná vláknina potravy		26,8
nerozpustná vláknina potravy		10,3
Obsah/faktor	mycelium	
vitamíny v biomase		g/100 g sušiny
niacin		3,7
kyselina pantothenová		7,10
pyridoxin		1,81

Poznámka:

Tuk – původ odpěňovač

Bílkoviny – pravděpodobně mírně ovlivněny přidavkem amoniaku

Antioxidační aktivita (mg AK/1 g sušiny) (DPPH) = 2,65

Porovnání obsahu glukanů v biomase – viz obr. 2 - zobrazuje tabulka 2.

Tabulka 2

Obsah/faktor	mycelium	
		g/100 g sušiny
sušina		
celkové glukany		13,25
α – glukany		3,40
β – glukany		9,85
houby rodu <i>Pleurotus</i> (lyofilizát mycelia)		
celkové glukany	17 %	
α – glukany	3 %	
β – glukany	14 %	

- 5 Na obr. 2 jsou znázorněna FT-IR spektra houbového glukanu a mycelia *Penicillium oxalicum*. Bylo změřeno FT-IR spektrum vzorku v rozsahu vlnočtů 4000 až 450 cm^{-1} s rozlišením 2 cm^{-1} a porovnána spektra se spektrem houbového glukanu, kdy byla potvrzena přítomnost glukanu, který obsahuje 1,3 a 1,6 vazby, vzorek dále obsahuje tuky (oblast 3000 cm^{-1}) a bílkoviny (oblast 1700 cm^{-1}). Získané směsné pigmenty podle vynálezu ve formě červeného pigmentu byly
10 podrobeny analýze, jak zobrazuje obr. 2.

- Byly testovány vzorky směsných pigmentů (Natural Red) označené jako crude extract a original sample buněčně-biologickými technikami (fluorescenční mikroskopie, průtoková cytometrie) na primárních lidských kožních fibroblastech. Experiment byl proveden 2x pro oba vzorky, získaná
15 data nejevila žádný signifikantní rozptyl, jedná se o biologický duplikát.

Metodika:

- Buňky byly pro dosažení optimálního fyziologického stavu rozmrazeny ze zásobních kultur uchovávaných v tekutém dusíku týden před experimentem. Následně byly 1x pasážovány do optimální buněčné hustoty (konfluence cca 50 %) v 24-jamkových destičkách s vloženým krycím sklíčkem (Nunc). Pro testování bioaktivity/toxicity byly reagentie skladované v koncentraci 50 mg/ml (4 °C) naředěny za sterilních podmínek v médiu pro tkáňové kultury (D-MEM, 10% FCS) a přidány v požadovaných koncentracích k testovaným fibroblastům. Test probíhal 24 h/72 h při
25 37 °C, v 5% CO_2 v atmosféře.

- Pro průtokovou cytometrii FACS (dále jen FACS) byly buňky odděleny od kultivační destičky pomocí 0,1% roztoku trypsinu, bezprostředně označeny fluorescenčním barvivem DAPI identifikujícím nekrotické a apoptotické buňky (HY YEST 412 Kerry) a následně analyzovány
30 FACS Aria (Becton Dickinson). Data byla analyzována pomocí software FlowJo.

- Pro fluorescenční mikroskopii byly buňky fixovány 4% PFA v PBS 10 min, permeabilizovány 0,01% Tritonem X-100 v PBS, RT, blokovány 5% BSA v PBS a značeny pomocí monoklonální protilátky k Lamp-3 (MEM 259) a fluorescenčně značeným ftaloidinem-Alexa 594. Myší monoklonální protilátka byla následně identifikována pomocí sekundární GAM-Alexa 488
35

protílátky. Vizualizace byla provedena pomocí invertovaného fluorescenčního mikroskopu Olympus s využitím citlivé barevné kamery DP50 (objektiv 40x).

Průtoková cytometrie:

5

Dot-plotová analýza ukazuje výsledek jednoho z duplikátů pro 24h inkubaci s koncentracemi pokrývajícíchmi rozmezí 8 až 1000 mikrogramů/ml.

Závěr:

10

Pomocí průtokové cytometrie nebyla detekována signifikantní cytotoxicita v koncentračním rozpětí 8 až 1000 mikrogramů/ml. Nejvyšší testovaná koncentrace je extrémní, jen málo látek typu sekundárních metabolitů je takto bio-neutrálních. Obdobná data byla získána u 24h i 72h experimentu v biologickém duplikátu.

15

Fluorescenční mikroskopie:

Primární kožní fibroblasty byly testovány pro koncentrační rozmezí Natural Red extraktů v koncentraci 1 až 500 mikrogramů/ml. Byla vizualizována integrita a struktura aktinového cytoskeletu (ten je extrémně citlivý pro environmentální vlivy), pozdně endosomální/lysosomální vezikulární systém a jádra.

20

Závěr:

Zvolená kombinace znaků je vhodná pro citlivou identifikaci narušení buněčné fyziologie. Ta nebyla zaznamenána, snad s výjimkou koncentrace nejvyšší, která vedla k mírné změně adheze a protažení buněk, endozomálně/lysosomální systém nebyl ovlivněn, nebyla pozorována ani nekróza, ani apoptóza (při obou časových ovlivněních – 24 a 72 h), u obou frakcí v biologickém duplikátu.

30

Studované frakce Natural Red vykazují mimořádnou biokompatibilitu/absenci cytotoxicity k primární buněčné linii lidských kožních fibroblastů. Signifikantní buněčná patologie nebyla zaznamenána v širokém koncentračním rozpětí aplikovaných ve vícedenním formátu, testovaná pomocí citlivých kvantitativních (průtoková cytometrie) i kvalitativních technik (fluorescenční mikroskopie).

35

Průmyslová využitelnost

Řešení se týká nového způsobu výroby směsných pigmentů červených, fialových, oranžových a hnědých s antioxidačním účinkem, vzniklých po kultivaci a fermentaci biomasy z kmenů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374, dále se týká i těchto nových směsných pigmentů, pro použití v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

Seznam zkratk, které jsou použity v textu

FT-IR spektra – fluorescenční detektor infračerveného spektra
 RO – reverzní osmóza
 DEMI – demineralizovaná
 MF- mikrofiltrace
 NF - nanofiltrace
 PPG – polypropylenglykol
 DPPH – difenylpikrylhydrazil
 CO₂ - oxid uhličitý
 FCS – fluorescenčně korelační spektroskopie

50

55

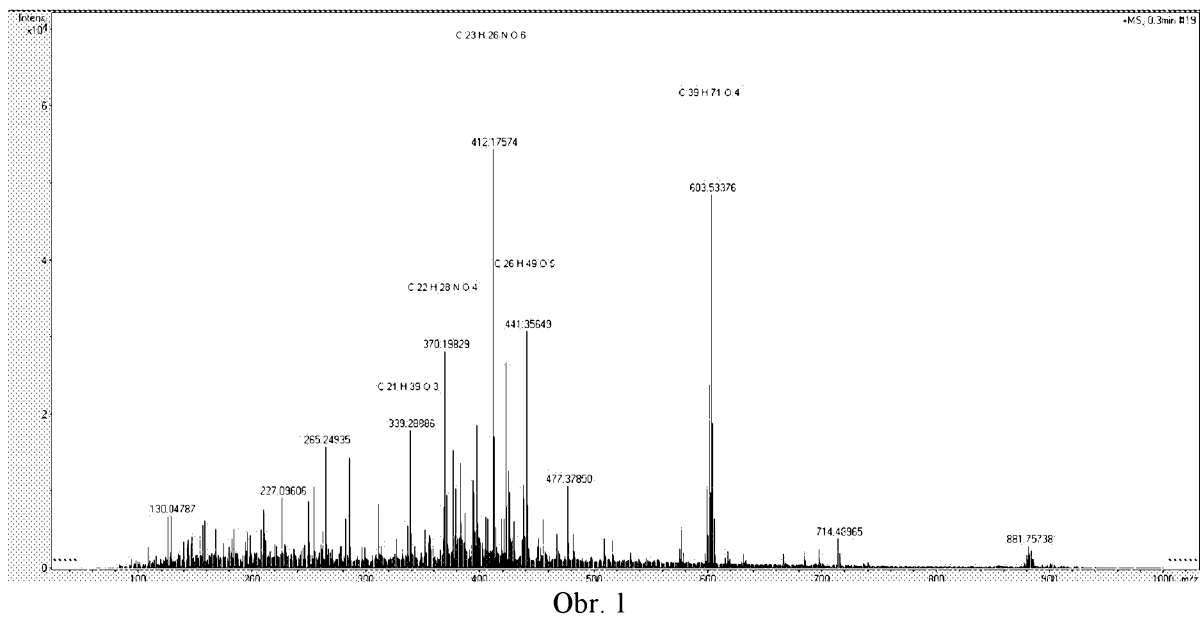
- FACS – fluorescenční průtoková cytometrie
DAPI – 4,6-diamidin-2-fenylindol – fluorescenční barvivo
PFA – plazmatické bílkoviny
PBS – pufr (fosforečnany) na tkáňové kultury
5 Triton X-100 – neionogenní tenzid
RT – reversní transkriptáza
BSA - bovinní sérový albumin
MEM – monoklonální protilátka
GAM-Alexa 488 – název protilátky

PATENTOVÉ NÁROKY

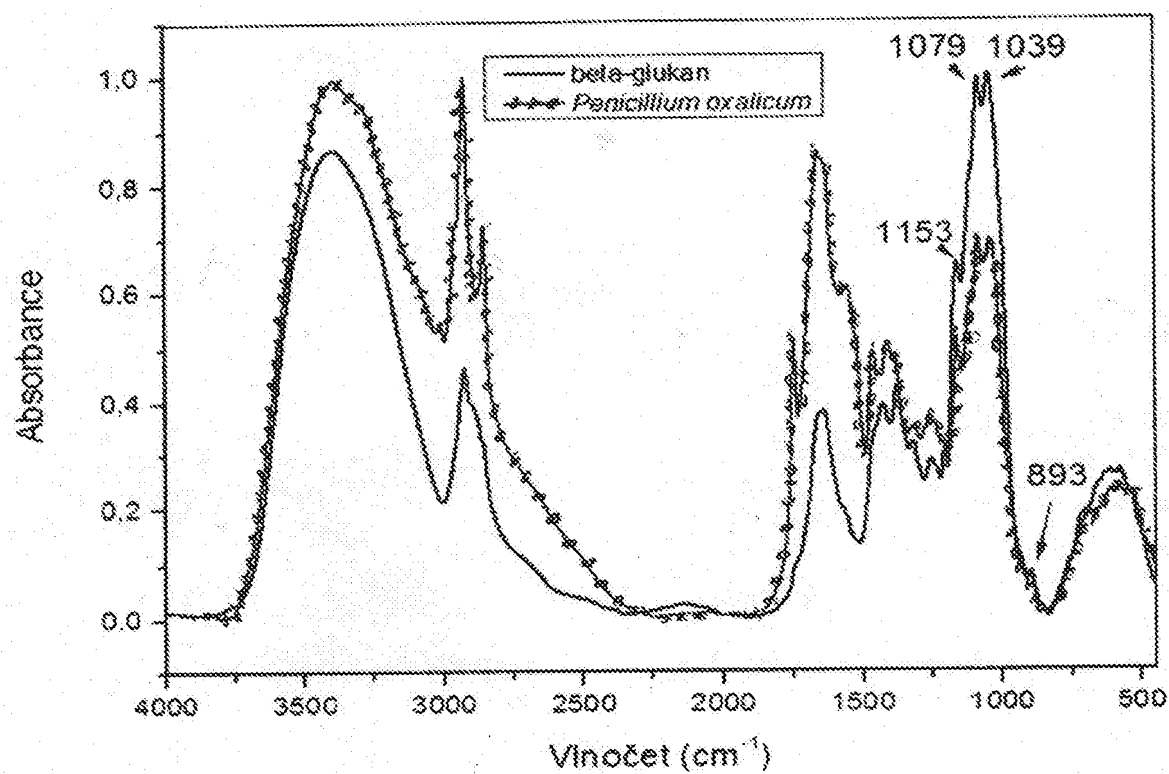
1. Způsob výroby směsného pigmentu na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem z kultivační biomasy kmenů mikroorganismů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374, **vyznačující se tím**, že výchozí biomasa obsahuje minimálně 10 % hmotn. směsi α a β glukánů, 3 % hmotn. niacinu, 7 % hmotn. kyseliny pantothenové a 1,5 % hmotn. pyridoxinu v sušině.

2. Směsný pigment na bázi červeného, fialového, oranžového a hnědého barviva s antioxidačním účinkem připravený z biomasy kmenů mikroorganismů *Penicillium oxalicum* var. *Armeniaca* CCM 8242 a CCM 8374 podle nároku 1, zejména pro potravinářství, farmacii a kosmetiku, **vyznačující se tím**, že vykazuje charakteristická maxima na spektrofotometrickém grafu z molekulové absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra při rozsahu vlnových délek 400 nm až 800 nm, a to ve vodném roztoku o hodnotě pH 7 až 7,5 dvě maxima, kdy první maximum na Lambda max_1 je $A = 494$ nm a druhé nejvyšší maximum na Lambda max_2 je $A = 420$ nm, a dvě maxima v roztoku alkoholu, kdy první maximum na Lambda max_1 je $A = 502$ nm a druhé nejvyšší maximum na Lambda max_2 je $A = 415$ nm.

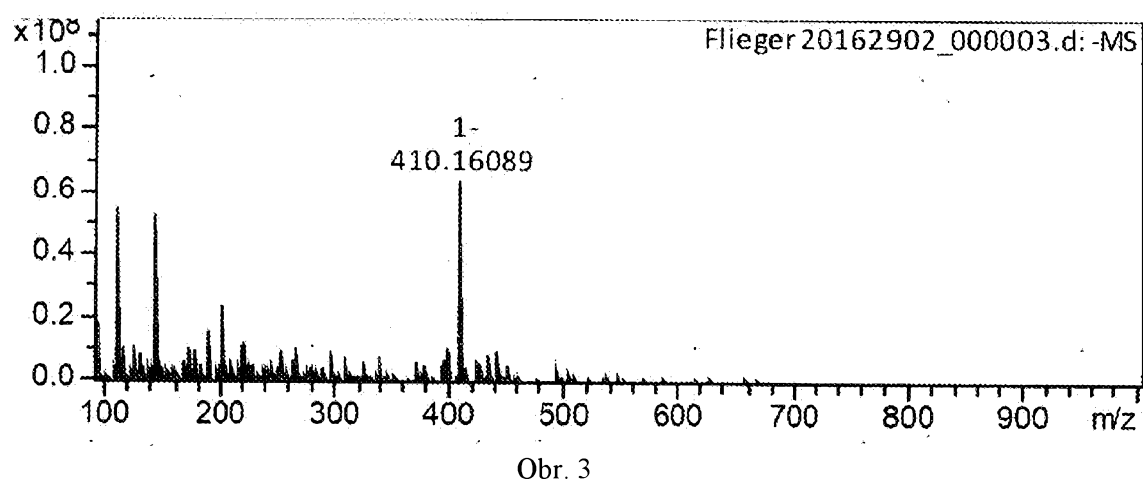
4 výkresy

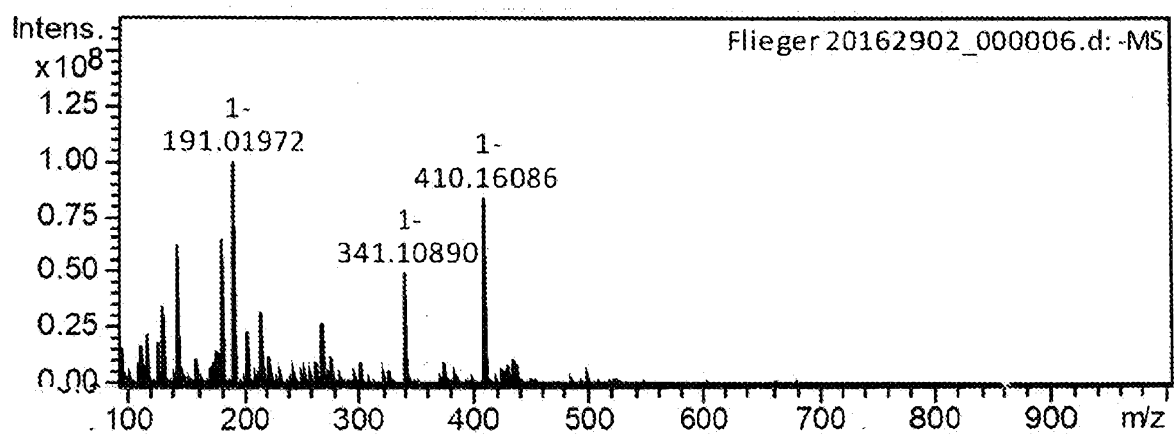


Infračervená spektroskopie



Obr. 2





Obr. 4