

Ini. Cl.:	C120

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE UN COLORANTE ROJO DERIVADO DEL PIGMENTO DE MICROORGANISMOS DEL GENERO "MONASCUS", a favor de la firma suiza SOCIETE DES PRODUITS NESTLE S.A., residente en VEVEY (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención tiene por objeto un colorante rojo y su procedimiento de preparación a partir de un pigmento de un microorganismo del género "Monascus".

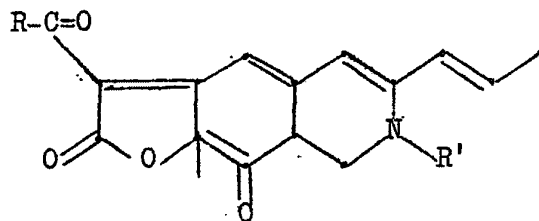
- Es bien sabido que microorganismos del género
5. "Monascus", como por ejemplo el "M. purpureus", "M. rubropunctatus", "M. rubiginosus" o "M. rubra", producen pigmentos amarillos, anaranjados o rojos en un medio de cultivo. Se ha descrito la estructura de por lo menos tres pigmentos de especies de "Monascus" a saber, rubropunctatina,
 10. monascorubrina y monascoflavina. También se sabe que un

5. pigmento de una especie de "Monascus" apenas es soluble en agua pero que, en vista de que presenta la propiedad de fijarse a las proteínas, es posible preparar un pigmento soluble uniéndolo a una proteína, ácido aminado o péptido que sean solubles. Ahora bien, la fijación a una proteína es indefinida, en el sentido de que no se sabe sobre cual ácido aminado se fija el pigmento y cuáles son las propiedades del pigmento-ácido aminado desconocido.

10. En la investigación de colorantes que se puedan utilizar en la industria alimenticia, es preciso saber exactamente a que atenerse a fin de poder examinar con éxito el problema de su tolerancia por el organismo humano.

15. La presente invención tiene por origen la preocupación de proponer un colorante rojo de estructura determinada y muy especialmente un colorante del que pueda anticiparse una perfecta tolerancia por el organismo humano.

20. De conformidad con la invención, el colorante se caracteriza por el hecho de que presenta la estructura

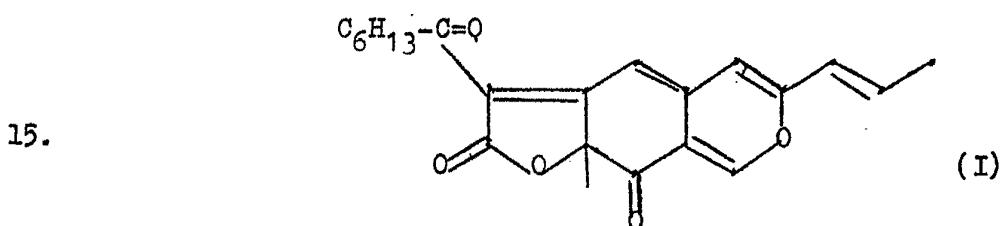


25. en la que R es un radical alifático y R' representa un radical de un compuesto de fórmula H_2N-R' elegido entre un grupo que comprende azúcares aminados, polímeros de azúcares aminados, ácidos poliaminados

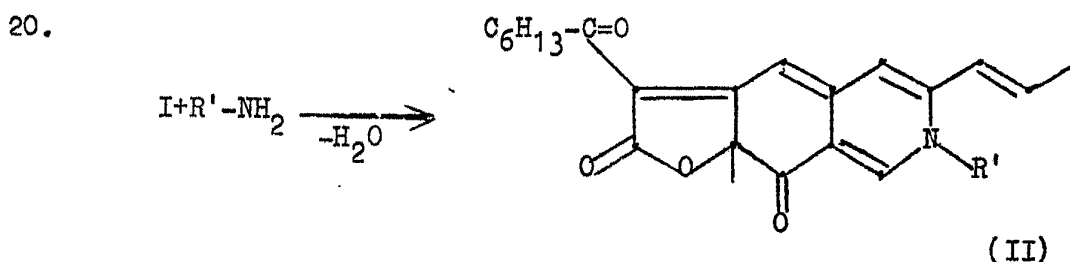
y alcoholes aminados.

El procedimiento de la invención se caracteriza por el hecho de que se hace reaccionar un pigmento amarillo naranja de "Monascus" con una sustancia reactiva escogida entre un grupo que comprende los azúcares aminados, ácidos poliaminados y alcoholes aminados, para obtener un compuesto químico de coloración roja.

Efectivamente se ha observado que, en primer lugar, el pigmento aislado de "Monascus rubiginosus", que se une al soporte con el que tiene lugar la reacción, presenta antes de reaccionar un color amarillo naranja y la estructura



en segundo lugar, la reacción se lleva a cabo con un grupo aminado libre del soporte según el esquema



25. en tercer lugar, solamente se produce la reacción con un grupo aminado primario libre, tipo alifático, que no puede sufrir mesomería como lo indican por ejemplo, los resultados negativos obtenidos a partir de reacciones ensayadas con bases púricas y pirimídicas, nucleótidos, nucleósidos,

RNA, DNA, azúcares aminados acetilados, urea y quitina.

5. El pigmento amarillo naranja puede obtenerse en forma cristalina y pura, por ejemplo, sometiendo un micelio de "Monascus rubiginosus" a una extracción con cloruro de metileno, filtrando el extracto concentrado sobre una columna de gel de sílice con cloroformo como vehículo, finalmente concentrado y cristalizando a partir de etanol la fracción de cloroformo que contiene el pigmento. La reacción puede llevarse a cabo, por ejemplo, adicionando 10. una parte de etanol que contenga en solución varios tantos por mil del pigmento amarillo naranja, a diez partes de una solución o suspensión acuosa que tenga una concentración de varios tantos por ciento del soporte elegido. La reacción está acompañada de un notable desplazamiento hacia el rojo de la banda de absorción UV de mayor longitud de onda 15. lo cual hace que el pigmento resulte francamente rojo. La mezcla se vuelve de color rojo subido antes de una hora. Puede seguirse fácilmente la reacción por cromatografía en capa fina empleando como vehículo una mezcla de cloroformo/metanol/ácido acético en la relación 93:7:5. El punto amarillo naranja emigra con un valor de R_f de 0,9 aproximadamente, mientras que el compuesto rojo puede presentar un valor de R_f inferior a 0,5.

25. La solubilidad del colorante depende de la naturaleza más o menos hidrófila del radical R' de la fórmula II.

En una forma preferida del colorante de la invención R' representa el radical de quitosana si se indica este último con la fórmula H_2N-R' . En efecto, presenta im-

- portantes ventajas el empleo de la quitosana como sustancia reactiva, o dicho de otra manera, como soporte del mencionado pigmento de "Monascus". La primera ventaja es que la quitosana no parece que sea metabolizada por el organismo humano. Un colorante así pasaría a través de todo el tubo digestivo sin sufrir ninguna modificación, no pudiendo por consiguiente, presentar el menor riesgo de toxicidad. Otra ventaja es que la quitosana como tal o en forma acetilada, como quitina, abunda en la naturaleza en el esqueleto de los animales, por ejemplo en los caparazones del lubigante o en las paredes celulares de algas verdes u hongos.

Los ejemplos 1-5 se exponen a título de ilustración del objeto de esta invención.

15.

EJEMPLO 1

- Se disuelven 20 g de quitosana técnica en copos dentro de un litro de ácido acético al 10% y se deja en reposo durante 12 horas a la temperatura ambiente. Se centrifuga la solución obtenida a fin de eliminar los fragmentos no disueltos. Se reprecipita la quitosana en forma finamente dividida forzándola a pasar a través de un conducto de 2 mm de diámetro que desemboca en un volumen de tres litros de una solución alcalina cuyo pH es 11. Se mantiene el pH a 11 mediante la adición de NaOH al 40%.

25.

Se centrifuga el precipitado voluminoso y se lava tres veces con agua destilada. Se suspende el mismo en un litro de agua destilada. Se añaden 200 mg de pigmento amarillo naranja del "Monascus" disuelto en 100 ml de etanol. La suspensión blanca de quitosana pasa al rojo

oscuro en el transcurso de unos 30 min. Se agita la mezcla durante varias horas, se centrifuga y se lava con agua destilada. Una parte se conserva suspendida en agua. La otra se seca con alcohol.

5.

EJEMPLO 2

Se suspenden 31 g de quitosana en 2 litros de agua destilada. Se prepara una solución saturada de 500 mg de pigmento amarillo naranja de "Monascus" en etanol. Se adiciona, gota a gota y agitando, la solución del pigmento en la suspensión de quitosana. La suspensión pasa lentamente a rojo oscuro. El pigmento está totalmente unido a la quitosana, encontrándose en una proporción del 1,6% en peso. Se lava el producto de la reacción tres veces con agua destilada con ayuda de la centrifugación.

10.

15.

Se liofiliza una parte de este quitosana roja. Se examinan las partes liofilizadas y no liofilizadas con el auxilio de un colorímetro "colormaster". Se expresa el resultado de las medidas cuantitativamente consultando las tablas de la Comisión Internacional de Iluminación (ICI) y se obtienen los siguientes valores :

20.

	Luminosidad [%]	Longitud de onda dominante [nm]	Pureza [%]
Quitosana roja y seca (liofilizada)	8,45	592,3	42,2
Quitosana roja y húmeda (no liofilizada)	0,70	606	70

25.

EJEMPLO 3

Se disuelven 500 mg (1,31 mmoles) de monasco - rubina en 100 ml de etanol y se añaden 83 microlitros

- (1,38 mmoles) de etanolamina. Se deja en reposo varias horas a la temperatura ambiente y al abrigo del aire y de la luz. Se evapora el disolvente al vacío y se seca sobre ácido sulfúrico en un desecador. Se obtienen 588 mg de un cristalizado rojo muy subido. Se purifica por recristalización en un medio compuesto de etanol y agua.
- 5.

EJEMPLO 4

- Se agitan a temperatura ambiente, al abrigo del aire y la luz, 500 mg (1,31 mmoles) de monascorubrina, 285 mg (1,32 mmoles) de clorhidrato de glucosamina y 25 mg (alrededor de 3 mmoles) de bicarbonato de sodio en una mezcla de 50 ml de etanol y 50 ml de agua. Se manifiesta la evolución de la reacción por un color rojo que cada vez es más subido. Ha terminado completamente la evolución una vez transcurridas 10 horas, no observándose más la mancha correspondiente a la monascorubrina al hacer una cromatografía en capa fina. Se elimina entonces el disolvente por evaporación al vacío. Se obtiene un residuo rojo muy subido que es insoluble en éter o cloroformo, pero soluble en etanol y agua.
- 10.
- 15.
- 20.

EJEMPLO 5

- Se prepara un colorante como se describe en el ejemplo 4, con la única excepción de que se utilizan 285 mg (1,32 mmoles) de clorhidrato de galactosamina en vez de clorhidrato de glucosamina. El colorante obtenido presenta las mismas propiedades que el del ejemplo 4.
- 25.

Los ejemplos 6-10 siguientes se exponen a título de ilustración del uso y ventajas del colorante de la invención.

EJEMPLO 6

Para preparar un substitutivo bien coloreado de la carne, se mezclan en seco durante 30 minutos, 190 g de harina de soja desengrasada y 10 g de quitosana roja seca, obtenida de la manera que se ha descrito en el ejemplo 2. Se adiciona a esta mezcla el 28% en peso de agua. Se somete la mezcla húmeda a un tratamiento de cocción extrusión a una presión de 25 Kg/cm² y a una temperatura que alcanza los 162,5°C en el centro de la extrusionadora.

5.

10.

El producto poroso expandido y por consiguiente estructurado, obtenido a la salida de la extrusionadora, presenta un agradable color rojo parecido al de la carne. Sus características, determinadas como se describe en el ejemplo 2 son :

15.

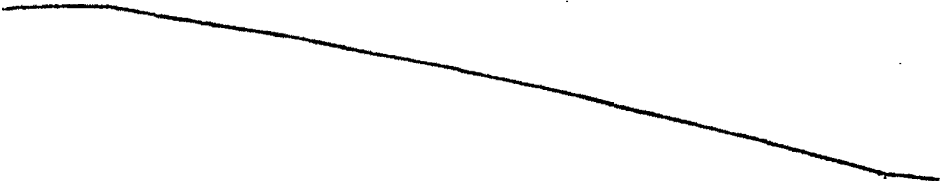
Luminosidad [%]	Longitud de onda dominante [nm]	Pureza [%]
8,99	590	38

EJEMPLO 7

20.

Se prepara un substitutivo bien coloreado de la carne del modo descrito en el ejemplo 6, con la única excepción de que se utilizan 10 g de quitosana roja húmeda, obtenida de la manera que se ha indicado en el ejemplo 2, en lugar de quitosana roja seca. El producto obtenido presenta un color análogo al del producto reseñado en el ejemplo 6. Se determinan estas características como antes y se obtiene :

25.



Luminosidad [%]	Longitud de onda dominante [nm]	Pureza [%]
4,28	592	41,8

5.

EJEMPLO 8

Se colorean yogurs naturales del comercio mezclándoles el colorante rojo seco obtenido de la manera descrita en el ejemplo 2, también llamado quitosana roja seca que contiene un 1,6% de pigmento. Se efectúan tres ensayos paralelos a distintas concentraciones de colorante en el yogur, a saber, 0,2; 0,5 y 1% en peso. Se comparan los productos obtenidos con productos naturales del comercio, yogurs de fresa y frambuesa. El yogur con un 0,5% de colorante es el que tiene un color más parecido al que presentan los productos naturales. El de un 0,2% aparece pálido y el del 1% aparece oscuro. El color del yogur que posee un 0,5% de quitosana roja parece más natural que el de un yogur teñido con un colorante rojo corriente.

15.

El examen colorimétrico llevado a cabo de la forma indicada en el ejemplo 2, da los resultados siguientes :

25.

Tipo de yogourt	Luminosidad [%]	Longitud de onda dominante [nm]	Pureza [%]
Natural	71,2	573	11,6
frambuesa	49,4	610	6,3
fresa	48,6	593	13,0
natural + quitosana roja a razón de :			
0,2 %	50,6	594	14,4
0,5 %	40,6	598	20,0
1 %	32,6	600	26,5

EJEMPLO 9

Para preparar un aperitivo de agradable color rojo a partir de un vermut blanco, se incorpora al mismo el colorante rojo obtenido de la manera descrita en el ejemplo 3, también llamado N-(beta-hidroxietil)-monascamina o etanolamina roja, soluble en alcohol. Se disuelven previamente los cristales del colorante en una pequeña cantidad de alcohol etílico. Se añaden distintas cantidades de esta solución concentrada a cantidades iguales de vermut blanco, de modo que se obtengan diferentes concentraciones de colorante en el aperitivo, comprendidas entre 10^{-3} y 10^{-2} % en peso. Se examinan las muestras con la ayuda del colorímetro "colormaster" y las tablas de ICI, obteniéndose los resultados siguientes :

15.

Concentración mg etanolamina roja por 100 ml de vermut blanco	Luminosidad [%]	Longitud de onda dominante [nm]	Pureza [%]
0	100	576,5	2,3
1	71,8	574,5	40,2
2	56,6	594,5	41,5
4	38,5	596,4	70,0
6	28,3	598,8	87,0
10	21,9	601,8	95

20

25.

EJEMPLO 10

Para preparar un aperitivo sin alcohol de color rojo y de buen aspecto, se incorpora al agua mineral gaseosa natural, el colorante rojo obtenido del modo descrito en el ejemplo 5, también denominado N-(2-galactosil)-

monascamina o galactosamina roja. Se añade este colorante al agua agitando algunos segundos a la temperatura ambiente. Se obtienen resultados interesantes con concentraciones del colorante en agua del orden de algunos tantos por mil en peso. Las características de algunas muestras, determinadas como se ha indicado anteriormente, son las siguientes:

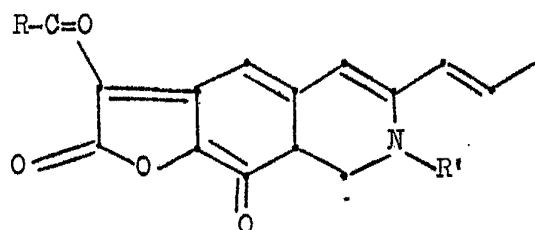
Concentración mg galactosamina roja por 100 ml de agua gaseosa	Luminosidad	Longitud de onda dominante $\frac{\text{nm}}{\text{nm}}$	Pureza $\frac{\text{nm}}{\text{nm}}$
100	87,7	586	5
150	79,6	586,1	8,5
200	71,9	587,7	12,6
300	54,5	590	22,7

= . =

N O T A

Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente suiza nº 14887/74 del 7 Noviembre de 1974.

1. Procedimiento para la preparación de un colorante rojo derivado del pigmento de microorganismos del género "Monascus" que presenta la estructura



- en la que R es un radical alifático
y R' representa el radical de un compuesto de fórmula
H₂N-R' elegido entre un grupo que comprende azúcares ami-
nados, ácidos poliaminados y alcoholes aminados, caracte-
5. rizado por el hecho de que se hace reaccionar un pigmento
amarillo naranja de "Monascus" con una sustancia reactiva
escogida entre un grupo que comprende azúcares aminados,
polímeros de azúcares aminados, ácidos poliaminados y al-
coholes aminados para obtener un compuesto químico de co-
10. loración roja.
2. Procedimiento según la reivindicación 1,
caracterizado por el hecho de que, preferentemente la
sustancia reactiva es quitosana.
3. Procedimiento según la reivindicación 1,
15. caracterizado por el hecho de que también preferente-
mente la sustancia reactiva es etanolamina.
4. Procedimiento según la reivindicación 1,
caracterizado por el hecho de que del mismo modo prefe-
rente la sustancia reactiva es una hexosamina.
20. 5. Procedimiento para la repreción de un
colorante rojo derivado del pigmento de microorganismos
del género "Monascus".
- Según se describe y reivindica en la presente
memoria descriptiva que consta de 13 hojas foliadas y
25. escritas a máquina por una sola cara, acompañadas de la
documentación reglamentaria.

Madrid, a 6 NOV. 1975

p.a.

JAIME ISERN

P.P.

Firmado: JOSE F. NIETO