

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5774698号
(P5774698)

(45) 発行日 平成27年9月9日(2015.9.9)

(24) 登録日 平成27年7月10日(2015.7.10)

(51) Int. Cl. F I
C 1 2 H 1/04 (2006.01) C 1 2 H 1/04
C 1 2 C 7/28 (2006.01) C 1 2 C 9/08

請求項の数 17 (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2013-520684 (P2013-520684)	(73) 特許権者	508343478
(86) (22) 出願日	平成23年7月18日 (2011.7.18)		ハイネケン・サプライ・チェーン・ビー・
(65) 公表番号	特表2013-532475 (P2013-532475A)		ブイ。
(43) 公表日	平成25年8月19日 (2013.8.19)		Heineken Supply Cha
(86) 国際出願番号	PCT/NL2011/050524		in B. V.
(87) 国際公開番号	W02012/011808		オランダ国、エヌエル-2382 ビーエ
(87) 国際公開日	平成24年1月26日 (2012.1.26)		イチ・ゾエテルボウデ、ブルゲメーステル
審査請求日	平成26年6月20日 (2014.6.20)		・スマートスベーク 1
(31) 優先権主張番号	10170417.9		Burgemeester Smeets
(32) 優先日	平成22年7月22日 (2010.7.22)	(74) 代理人	weg 1, NL-2382 PH Zo
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		eterwoude, The Neth
			erlands
			100108855
			弁理士 蔵田 昌俊
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酵母発酵飲料の清澄化および安定化の後のメンブランフィルターの未透過物からPVP Pを再生させる方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

酵母発酵飲料を調製する方法であって、

- a . 生物学的に活性のある酵母で麦汁を発酵させて、酵母、アルコール、ポリフェノール、およびタンパク質を含有する発酵液を生成するステップと、
- b . 任意に、前記発酵液から酵母を除去するステップと、
- c . 前記発酵液をポリビニルポリピロリドン (P V P P) 粒子と混合して、前記発酵液中に含有されている前記ポリフェノールおよび / または前記タンパク質の少なくとも一部の画分を前記 P V P P 粒子と結合させるステップであり、前記 P V P P 粒子の少なくとも 8 0 重量 % が 5 ~ 1 5 0 μ m の範囲の直径を有するステップと、
- d . 前記 P V P P 粒子を含有する前記発酵液を、濾過助剤を用いずに、 0 . 1 ~ 5 μ m の範囲の孔径を有する第 1 のメンブランフィルターで濾過して、清澄化された発酵液と、 P V P P 粒子を含有する第 1 の未透過物とを生成するステップと、
- e . 前記第 1 の未透過物を pH が 1 0 . 0 以上の水性再生液と合わせて、前記 P V P P 粒子からポリフェノールおよび / またはタンパク質を放出させるステップと、
- f . 第 1 の未透過物と再生液との前記組合せを、濾過助剤を用いずに、 0 . 1 ~ 1 0 μ m の範囲の孔径を有する第 2 のメンブランフィルターで濾過して、再生された P V P P 粒子を含有する第 2 の未透過物を生成するステップと、
- g . 前記第 2 の未透過物中に含有されている前記再生された P V P P 粒子を任意にさらに精製した後で、前記再生された P V P P 粒子をステップ c に再循環させるステップとを

10

20

み、

ステップ d の前記第 1 の未透過物中に含有されているおよび / またはステップ f の前記第 2 のフィルター上に保持されている巨大分子成分が、酸化体、酵素、およびそれらの組合せから選択される、タンパク質および / またはポリフェノールを分解する能力がある分解剤を用いて分解される方法。

【請求項 2】

ステップ d の前記第 1 のメンブランフィルターが、ステップ f における前記第 2 のメンブランフィルターとして用いられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

ステップ e と f とが同時に実施される、請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

ステップ e と f とが連続的に実施される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

ステップ e が、前記第 1 の未透過物を、前記第 1 の未透過物が前記再生液と混合される混合容器に移動させることを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 のメンブランフィルターが $0.2 \sim 1 \mu\text{m}$ の範囲の細孔径を有する、先行する請求項のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記方法において用いられる前記 PVP 粒子の少なくとも 80 重量%、好ましくは少なくとも 95 重量%が前記第 2 の未透過物中で回収される、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 8】

ステップ e が、前記第 1 の未透過物を前記分解剤と合わせることを含む、請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記再生液が前記分解剤を含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記分解剤が、酸化体、好ましくは、過硫酸塩、次亜ハロゲン酸塩、過酸化物、およびそれらの組合せから選択される酸化体を含む、請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 11】

前記分解剤が、酵素、好ましくは、プロテイナーゼ、炭水化物分解酵素、ポリフェノールオキシダーゼ、およびそれらの組合せから選択される酵素を含む、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記発酵液と前記 PVP 粒子とを合わせることが、前記発酵液を前記 PVP 粒子と混合することにより達成される、請求項 1 から 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記 PVP 粒子が、前記発酵液と、 $1 : 100$ 、 $000 \sim 1 : 100$ 、好ましくは $1 : 30$ 、 $000 \sim 1 : 1000$ の重量比で合わされる、請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 14】

前記第 1 の未透過物が、少なくとも 0.5 g/l 、好ましくは $1 \sim 200 \text{ g/l}$ の前記 PVP 粒子を含有する、請求項 1 から 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 1 の未透過物を前記水性再生液と合わせる前または後に、前記第 1 の未透過物または第 1 の未透過物と前記水性再生液との前記組合せを沈降分離に供することにより、前記第 1 の未透過物から酵母が除去される、請求項 1 から 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

【請求項 16】

前記第2の未透過物が、前記再生されたPVP P粒子の再循環の前に、沈降分離を用いて前記第2の未透過物から酵母を除去することによりさらに精製される、請求項1から14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 17】

用いられる前記沈降分離法が、浮選分離、および、液体サイクロンを用いた分離から選択される、請求項15または16に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、酵母発酵飲料を安定化させる方法に関する。より具体的には、本発明は、酵母発酵液をポリビニルポリピロリドン(PVP P)粒子と合わせて、該発酵液中に含有されている少なくとも一定の画分のポリフェノールおよび/またはタンパク質を前記PVP P粒子と結合させることと、PVP P粒子を含有するスラリーを該発酵液から除去することと、PVP P粒子を再生させることとにより酵母発酵飲料を安定化させる方法を提供する。

10

【背景技術】

【0002】

酵母発酵飲料、たとえばビールは、安定化させることで、当該飲料の味および外見が賞味期限時点でも包装後と同様に良好であることが確実になる。消費者の最初の評価は視覚的評価であることから、清澄性は、ビール品質の判断基準とされる。いくつかの注目すべき例外はあるが、消費者は、澄んだ魅力的な製品を期待し、このような製品には混濁(haze)がない。

20

【0003】

ビール中のコロイド状の混濁は、保管中にポリフェノール-タンパク質複合体が形成されることにより生じる。新鮮なビールは、酸性のタンパク質およびさまざまなポリフェノールを含有する。タンパク質とポリフェノールとは緩い水素結合により複合体を形成することがあるが、この複合体の分子量の低さは、小さすぎて肉眼には見えないことを意味している。こうした小さなポリフェノール(フラバノイドと呼ばれる)は、重合し、酸化すると、短鎖状(縮合型)のポリフェノール[タンノイド(tannoid)と呼ばれる]となる。これらのタンノイドは、水素結合によりいくつかのタンパク質を架橋して可逆性の寒冷混濁を形成する能力がある。さらに保管を続けると、より強いイオン結合および共有結合がタンノイドとタンパク質との間で形成され、その結果、不可逆的な永久混濁となる。永久混濁が出現する速度および程度は、醸造材料、工程、および保管条件の影響を受け、安定化助剤(stabilisation aid)の使用により大きく改善させる(低下させる)ことができる。

30

【0004】

混濁の発生における速度決定因子はポリフェノール画分の変化であることから、これら混濁の前駆物質のレベルを低下させることは、ビールのコロイド安定性を確保するための非常に効率的な方法である。ポリビニルポリピロリドン(PVP P)は水に溶けない(ポリ)ビニルピロリドンの架橋ポリマーである。醸造業では、高度に多孔性のPVP P粒子を使用して、混濁性ポリフェノール(haze polyphenol)を吸着させる。PVP Pは、混濁性ポリフェノールを、主に非常に強い水素結合により、混濁性ポリフェノールのための多数の連結側(attachment side)と選択的に複合体化させる。PVP Pポリマーの分子構造により内部の水素結合が限定され、これにより、利用可能な反応部位の数が最大となる。

40

【0005】

PVP P安定化剤は、1回使い切り(この場合、PVP P安定化剤を、ビール流に添加し、珪藻土フィルター上で除去する)にも、再生用(専用の濾過ユニットを使用して、澄んだビールに添加し、リサイクルして再使用する)にも、最適化される。いずれの様式に

50

おいても、最初の取扱いの特徴の多くは共通している。PVP粉末は、投入タンク（dosing tank）中でスラリーにするが、その際、軟水処理した脱気水を8～12%（wt/vol）周辺の濃度で使用する。材料は、15分間以上攪拌して、粒子を膨潤化および水和させなければならない。次いで、スラリーを常に攪拌下に保って、沈殿を防止すべきである。再生用の場合、安定化剤投入タンクは大抵80で維持して、長期的な微生物安定性を確保する。

【0006】

1回使い切りPVPを添加する最も一般的な方法は、配分ポンプ（proportioning pump）を用いてビール流に連続投入することによる。PVPは、短い接触時間で非常に有効と考えられるが、効率性を最大にするには、添加時から珪藻土フィルター上の使い終わったPVPの除去までの接触時間が5～10分であることが推奨される。PVPは、0以下の低温のビールに添加して、すでに形成されているポリフェノール-タンパク質複合体の再溶解を防止すべきである。

10

【0007】

再生可能なPVP使用の原理は、材料を苛性剤（caustic）（NaOH）溶液で洗浄することにより、PVP-ポリフェノール結合を破壊することである。再生は、醸造所が大規模な生産量を安定化させる場合、および/または、安定化されているビールのポリフェノール含有量が極めて多いことから有効なコロイド安定化のために高い添加率のPVPが必要となるような場合には、経済的であると考えられる。再生用のPVPは、サイズがより大きく機械的強度がより高い粒子を生成するために特に製造され、やはり有効にポリフェノールを減少させる。水平方向のリーフフィルター（leaf filter）が、PVPを使用および再生させるための本来のデザインであったが、現在はキャンドルフィルターも採用されている。

20

【0008】

再生用のPVPの最初の調製は、1回使い切り製品の調製と非常によく似ている。専用のスラリータンクが必要であり、このタンクは、多くの場合、加熱ジャケットを備えている。空のフィルターを、まずCO₂でパージし、約1～2mm厚の再生可能なPVPのプレコートを手拭子スクリーン上に堆積させる。点検窓または測定点の水が清澄になるまで、安定化剤のスラリーをフィルター周囲に再循環させる。PVPは、配分ポンプを用いて、入ってくる瞬間のビール流中に投入する。有効な安定化作業は、フィルタープレート間の空間にPVPが満たされた時点で完了する。安定化されたビールの最終体積は、フィルターのサイズ、PVP量、およびビール中への添加速度によって決まり、数千hlに達することがある。

30

【0009】

濾過および安定化の終了時点で、残存ビールをビール回収タンクに戻す。使用済のPVPは、PVP濾過床を通して60～80の苛性剤（1～2重量%/wt/wt）溶液を15～30分間循環させることにより再生させる。時には第2の苛性すすぎ液（caustic rinse）を用いるが、この場合は、第1サイクル分はドレーンに流れ、第2サイクル分は、蓄えておいて、次の再生時に第1の苛性すすぎ液として再使用する。フィルターを出る苛性剤の色は非常に濃く、このことから、強いPVP-ポリフェノール複合体が破壊されたことが確認される。次いで、PVPフィルターケーキに80の湯を勢いよく流して、苛性剤溶液を取り除き、pHを下げる。この工程に続き、フィルターを出る溶液がpH4周辺に達するまで、20分かけて、希薄酸でのすすぎサイクルを行う。希薄酸を60周辺に予め加熱することにより、ビール由来の残渣および水は有効に除去され、最良の結果が達成される。次いで、酸が洗い流されて放出口でのpHが中性になるまで、フィルターに冷水を勢いよく流す。最後に、CO₂、水、および、フィルターエレメントを回転させる遠心力を用いて、再生されたPVPをフィルタースクリーンから投入ポットに移す。投入タンク中の固体（PVP）含有量を確認し、新しい材料を添加して工程損失を補う。工程損失は、典型的には、1回の再生当たり0.5～1%である。しかし、PVP再生の経済性に対してより重大な影響を及ぼすものは、PVP安定化剤のコスト

40

50

ではなく、大容量のフィルターハードウェアのコストである。

【0010】

したがって、1回使い切りPVPが、相当な廃液流(waste stream)を発生させるという不利を有するのに対し、再生可能なPVPは、最新式のフィルターハードウェアへの相当な先行投資を必要とするという欠点がある。

【0011】

US2009/0291164には、PVPを含有する濾過助剤(filter aid)を再生させる方法であって、

(i) PVPと熱可塑性ポリマーとの共押出物(co-extrudate)を含む濾過助剤を用意することと、

(ii) 該濾過助剤を水性アルカリで処理することと、

(iii) 続いて、該濾過助剤を酵素で処理することと、

(iv) 続いて、該濾過助剤を酵素で処理したものに、該水性アルカリで第2の処理を実施することと

を含む方法が記載されている。

【0012】

US6,117,459には、合成ポリマーまたは天然の穀物を含む濾過アジュバント(filtration adjuvant)を再生させる方法であり、該アジュバントには、酵母を含んでいる有機不純物であり、前記不純物が入っている液体を濾過した後に該アジュバントの穀物の間の空洞中に捕捉される有機不純物が入っており、該アジュバントが濾過設備の濾過支持体上に堆積されている方法であって、

・該濾過アジュバントを80以上の温度のソーダ溶液で60~120分間洗浄するステップと、

・前記ソーダ溶液を用いたその場での洗浄ステップを、濾過しようとする該液体の方向と同一の洗浄方向で該ソーダ溶液を該濾過設備に通すことにより実施するステップと、

・酵素組成物を、40~60の温度で100~200分間、該洗浄方向で濾過設備に通すステップであり、前記酵素組成物が、酵母を溶解する能力がある薬剤を含んでいるステップと、

・前記濾過アジュバントを洗浄して、そこから該有機不純物の廃生成物(waste product)を排除するステップであり、該酵素組成物を通すステップにより生成される廃生成物を排除するためのソーダ溶液での第2の洗浄であるステップと、

・該濾過支持体上に蓄積された該アジュバントの穀物を除去して、前記濾過支持体を清浄化し、前記アジュバントの穀物を新しい濾過作業に使用するステップと

を含む方法が記載されている。

【発明の概要】

【0013】

本発明者らは、PVP粒子での処理により酵母発酵飲料を安定化させ、前記使用済のPVP粒子を再生して再使用する代替的な方法を開発した。本発明による方法は、1回使い切りPVPを用いても再生可能なPVPを用いても運用できる。さらに、本発明の方法は、非常に堅牢で、PVPを再生させるための最新式で大容量のフィルターハードウェアを必要としない。

【0014】

本発明の方法においては、PVP粒子を、清澄化前の酵母発酵液に加える。次いで、PVP粒子を含有する発酵液を、細孔径が0.1~5μmの範囲の第1のメンブランフィルターで濾過して、PVP粒子を含有する第1の未透過物(retentate)を生成する。続いて、第1の未透過物を再生液と合わせてポリフェノールおよび/またはタンパク質をPVP粒子から放出させ、未透過物中に含有されている巨大分子成分を分解し、その結果得られる液体を、細孔径が0.1~10μmの範囲の第2のメンブランフィルターで濾過して、再生されたPVP粒子を含有する第2の未透過物を生成する。最後に、再生されたPVP粒子を任意にさらに精製した後で、再生された粒子をこの方法において再

10

20

30

40

50

使用する。

【 0 0 1 5 】

より具体的には、本発明は、酵母発酵飲料を調製する方法であって、
 a) 生物学的に活性のある酵母で麦汁を発酵させて発酵液を生成するステップと、
 b) 任意に、該発酵液から酵母を(たとえば遠心分離により)除去するステップと、
 c) 該発酵液を、ポリビニルポリピロリドン(PVPP)粒子と混合するステップであり、前記PVPP粒子の少なくとも80重量%が5~150 μ mの範囲の直径を有するステップと、
 d) 該PVPP粒子を含有する該発酵液を、濾過助剤を用いずに、細孔径が0.1~5 μ mの範囲の第1のメンブランフィルターで濾過して、清澄化された発酵液とPVPP粒子を含有する第1の未透過物とを生成するステップと、
 e) 該第1の未透過物をpHが10.0以上の水性再生液と合わせて、該PVPP粒子からポリフェノールおよび/またはタンパク質を放出させるステップと、
 f) 第1の未透過物と再生液との該組合せを、濾過助剤を用いずに、細孔径が0.1~10 μ mの範囲の第2のメンブランフィルターで濾過して、再生されたPVPP粒子を含有する第2の未透過物を生成するステップと、
 g) 該第2の未透過物中に含有されている該再生されたPVPP粒子を任意にさらに精製した後で、該再生されたPVPP粒子をステップc)に再循環させるステップと
 を含み、ステップd)の該第1の未透過物中に含有されているおよび/またはステップf)の該第2のフィルター上に保持されている巨大分子成分が、酸化体、酵素、およびそれらの組合せから選択される、タンパク質および/またはポリフェノールを分解する能力がある分解剤を用いて分解される、方法を提供する。

【 0 0 1 6 】

本発明の方法は、PVPP粒子(1回使い切りPVPP粒子を含む)を効率的に回復させて同一の工程内で再使用することを可能にするという利点を有する。第二に、本発明の方法は、PVPP粒子のリサイクルを、発酵液、たとえばビールを清澄化するために使用するものと同じのメンブランフィルターを用いて実施できるという利益を有する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 7 】

したがって、本発明は、酵母発酵飲料を調製する方法であって、
 a. 生物学的に活性のある酵母で麦汁を発酵させて、酵母、アルコール、ポリフェノール、およびタンパク質を含有する発酵液を生成するステップと、
 b. 任意に、該発酵液から酵母を除去するステップと、
 c. 該発酵液をポリビニルポリピロリドン(PVPP)粒子と混合して、該発酵液中に含有されている少なくとも一定の画分の該ポリフェノールおよび/または該タンパク質を前記PVPP粒子と結合させるステップであり、前記PVPP粒子の少なくとも80重量%が5~150 μ mの範囲の直径を有するステップと、
 d. 該PVPP粒子を含有する該発酵液を、濾過助剤を用いずに(PVPP粒子を除く)、細孔径が0.1~5 μ mの範囲の第1のメンブランフィルターで濾過して、清澄化された発酵液とPVPP粒子を含有する第1の未透過物とを生成するステップと、
 e. 該第1の未透過物をpHが10.0以上の水性再生液と合わせて、該PVPP粒子からポリフェノールおよび/またはタンパク質を放出させるステップであり、該分解剤が、該再生液の前、後、またはそれと一緒に該第1の未透過物に加えられてもよいステップと、
 f. 第1の未透過物と再生液との該組合せを、濾過助剤を用いずに(PVPP粒子を除く)、細孔径が0.1~10 μ mの範囲の第2のメンブランフィルターで濾過して、再生されたPVPP粒子を含有する第2の未透過物を生成するステップと、
 g. 該第2の未透過物中に含有されている該再生されたPVPP粒子を任意にさらに精製した後で、該再生されたPVPP粒子をステップc)に再循環させるステップと
 を含み、ステップd)の該第1の未透過物中に含有されているおよび/またはステップf)の

該第2のフィルター上に保持されている巨大分子成分が、酸化体、酵素、およびそれらの組合せから選択される、タンパク質および/またはポリフェノールを分解する能力がある分解剤を用いて分解される、方法に関する。

【0018】

用語「麦汁」は、本明細書において使用する場合、たとえばビールまたはウィスキーの醸造中に仕込工程(mashing process)により抽出される液体を指す。麦汁は、穀物源、たとえば麦芽に由来する糖を含有し、この糖を醸造酵母により発酵させると、アルコール、香りなどが生成される。

【0019】

用語「清澄化された発酵液」は、混濁を形成する成分(酵母など)が除去された液体を指す。

10

【0020】

本明細書において、ポリフェノールおよび/またはタンパク質をPVP P粒子と結合/当該粒子から放出させることに言及した場合は常に、ポリフェノールまたはタンパク質が、たとえば(重合型の)ポリフェノールとタンパク質との複合体自体またはその一部としてPVP P粒子と結合または当該粒子から放出されることを意味する。

【0021】

術語「巨大分子成分の分解」は、巨大分子成分(たとえば、分子量が1kDaを超える成分)をより小さい分子に分割することを指す。

【0022】

用語「分解剤」は、本明細書においては、第1の未透過物中に含有されている巨大分子成分の分割をもたらす能力がある薬剤を指すために使用される。

20

【0023】

本発明の方法の一態様においては、酵母を発酵液から除去しないまま、発酵液をPVP P粒子と合わせる。この態様によれば、PVP P粒子を含有する発酵液は、典型的には、濃度が発酵液1kg当たり5mg以上の湿った酵母の形態で酵母を含む。より好ましくは、前記酵母の濃度は、発酵液1kg当たり湿った酵母10~10,000mgの範囲内、最も好ましくは発酵液1kg当たり湿った酵母50~10,000mgの範囲内である。以下においてより詳細に説明するように、酵母は、適切には、下流での処理、たとえば、沈殿、浮選、液体サイクロン(hydrocyclone)による分離、または細孔径が10~80μmと比較的大きい小型フィルターでの濾過により、PVP P粒子から分離させてもよい。

30

【0024】

本発明の方法の代替的な一態様においては、酵母を発酵液から除去してから、前記液をPVP P粒子と合わせる。酵母は、適切には、本方法のこの段階で、液体サイクロン、沈殿、または遠心分離を用いて除去してもよく、遠心分離が好ましい。この態様によれば、酵母除去後の発酵液の酵母含有量は、発酵液1kg当たり湿った酵母50mgを超えず、より好ましくは、発酵液1kg当たり湿った酵母5mgを超えない。発酵液中に含有されている湿った酵母の量は、適切には、標準的な粘度測定、すなわち、発酵液から一定の重みを付けた量(a weighted amount)の試料を採取し、次にこれを遠心分離にかけ、上清をデカントし、最後に、遠心分離にかけたペレットの重量を測定することにより、決定してもよい。

40

【0025】

典型的には、本発明の方法においては、PVP P粒子は、発酵液と、1:100,000~1:100の重量比、より好ましくは1:30,000~1:1000の重量比で合わせる。

【0026】

本明細書においてこれまで説明したように、本発明の方法は、1回使い切りPVP P粒子を使用しても再生可能なPVP P粒子を使用しても実施できる。典型的には、これらのPVP P粒子の質量加重平均直径は10~300μmである。本発明の一態様によれば、本方法は、質量加重平均直径が10~60μm、より好ましくは12~50μmの1回使

50

い切りPVP P粒子を用いる。別の態様によれば、本発明の方法は、質量加重平均直径が30~300 μ m、より好ましくは40~200 μ mの再生可能なPVP P粒子を用いる。

【0027】

本発明の方法で使用するPVP P粒子は、好ましくは比表面積が0.1 m^2/g 超である。典型的には、PVP P粒子の比表面積は、0.15~5 m^2/g の範囲内である。

【0028】

別の好ましい態様によれば、本発明の方法で用いるPVP P粒子は、PVP Pと別のポリマーとの共押出物ではなく、特に、PVP Pと熱可塑性ポリマーとの共押出物ではない。

10

【0029】

添加されたPVP P粒子を含有する発酵液を濾過することにより得られる第1の未透過物は、好ましくは、0.1g/l以上、より好ましくは1~200g/lの前記PVP P粒子を含有する。

【0030】

第1の未透過物中に含有されている湿ったPVP P粒子の少なくとも95重量%は、1.2g/ml未満、好ましくは1.0~1.1g/mlの密度を有することがさらに好ましい。

【0031】

第1の未透過物を水性再生液と合わせることは、適切には、第1の未透過物を前記再生液ですすぎながら、第1の未透過物を第1のメンブランフィルターと直接接触させ、該フィルターを通して、放出および分解された成分を含有する液体を除去することにより、達成してもよい。

20

【0032】

本発明のとりわけ好ましい一態様によれば、第1のメンブランフィルターは、ステップeにおける第2のメンブランフィルターとしても用いる。こうして、追加的な濾過ユニットの使用を回避してもよい。

【0033】

脱離/再生ステップeおよび濾過ステップfは、同時または連続的に実施してもよく、各選択肢には、固有の利点および不利な点がある。一態様では、ステップeは、第1の未透過物を、該未透過物が再生液と混合される混合容器に移動させることを含む。これには、第2のメンブランフィルターが第1のメンブランフィルターと同一のフィルターである場合、前記メンブランフィルターを、PVP P粒子を含有する別のバッチの発酵液の濾過に使用しながら、前のバッチにおいて作製された第1の未透過物を混合容器中で再生できる、という利点がある。こうして、第1のメンブランフィルターを非常に効率的な形で用いることができる。加えて、この態様には、混合容器中で最適な再生条件を用いることにより、たとえば、容器の内容物を継続的に攪拌することにより、および/または、前記内容物を(たとえば、80 $^{\circ}$ Cまでの温度に)加熱することにより、第1の未透過物中に含有されているPVP P粒子の再生を最大化できるという利点がある。

30

【0034】

本発明の方法で使用する第1のメンブランフィルターは、好ましくは、細孔径が0.2 μ m以上である。前記メンブランフィルターの細孔径は、好ましくは2 μ mを超えず、最も好ましくは1 μ mを超えない。

40

【0035】

本発明の方法においては、第2のメンブランフィルターで濾過する第1の未透過物と再生液との組合せは、好ましくは、固体含有量が最大300g/l、より好ましくは1~200g/l、最も好ましくは10~200g/lである。

【0036】

本発明の方法には、PVP P粒子を第2の未透過物中で非常に高い収率で回収できるという利点がある。収率80重量%は容易に達成され、さらには収率95重量%以上も実現

50

可能である。

【0037】

P V P P 粒子の再生の本質的要素は、P V P P 粒子と結合しているポリフェノールおよび/またはタンパク質の放出である。好ましくは、ポリフェノールおよび/またはタンパク質は、p H が 11.0 以上の再生液を用いることにより、P V P P 粒子から放出される。

【0038】

本発明によれば、第1の未透過物中に含有されている、および/またはP V P P 粒子から放出される巨大分子成分は、その一部が第2のメンブランフィルターにより保持されていてもよいが、前記第2のメンブランフィルターの目詰りを防止または解消するため、かつ、圧力上昇を回避するために分解される。この目的のために、酸化体、酵素、およびそれらの組合せから選択されるポリフェノールおよび/またはタンパク質を分解する能力がある分解剤を用いる。本発明の一態様において、再生液は分解剤を含有する。代替的な一態様において、分解剤は、別々の組成物、典型的には水性液中に含有されていてもよく、第1の未透過物に、再生液の前、後、またはそれと一緒にいずれで添加してもよい。また別の態様において、分解剤を含有する水性液は、ステップ f に続いて第2のフィルターをすすぐために使用する。

10

【0039】

好ましい一態様によれば、分解剤は酸化体を含む。酸化体は、典型的には、水性液、好ましくは再生液中で、少なくとも 0.1 g / l、より好ましくは少なくとも 0.5 g / l、最も好ましくは少なくとも 1 g / l の濃度で用いられる。好ましい酸化体としては、過硫酸塩、次亜ハロゲン酸塩 (hypohalite)、過酸化物、およびそれらの組合せが挙げられる。

20

【0040】

代替的な一態様によれば、分解剤は、酵素、好ましくは、プロテイナーゼ、炭水化物分解酵素 (たとえばグルカナーゼ)、ポリフェノールオキシダーゼ、およびそれらの組合せから選択される酵素である。発酵液の濾過およびそれに続く P V P P 粒子の再生は、適切には 2 時間以内に完了させる。より好ましくは、これらの手順は、0.2 ~ 1 時間で完了させる。

【0041】

とりわけ有利な一態様においては、ステップ d の第1のメンブランフィルターを、ステップ f における第2のメンブランフィルターとして用い、ステップ e において用いる再生液は、分解剤を含む。

30

【0042】

第2の未透過物は、有利には、酸の水性液ですすぎ、続いて水ですすいでから、再生された P V P P 粒子をステップ b に再循環させる。これらのすすぎ作用は、有利には、すすぎ液を第2の未透過物に通しながら第2のメンブランフィルターと接触させ、このフィルターを通してすすぎ液を除去することにより、行う。

【0043】

第1の未透過物中に含有されている残存酵母を除去するためには、特に、酵母を除去しないまま発酵液を P V P P 粒子と合わせる場合は、第1の未透過物を水性再生液と合わせる前または後に、前記第1の未透過物または第1の未透過物と水性再生液との組合せを沈降分離に供することにより第1の未透過物の酵母含有量を減少させることが有利である。

40

【0044】

第1のメンブランフィルターと第2のメンブランフィルターとが同一である場合のとりわけ有利な代替的な一態様においては、残存酵母を第2の未透過物から除去した後に再循環を行う。したがって、再生された P V P P 粒子の再循環の前に、沈降分離を用いて前記第2の未透過物から酵母を除去することにより第2の未透過物をさらに精製することが好ましい。

【0045】

50

術語「沈降分離」は、本明細書において使用する場合、液体中に懸濁している固体粒子を密度差に基づいて分離する分離法を指す。沈降は、懸濁液中の粒子が、重力および/または遠心加速度に応じて、自身を取り込まれている流体から沈降する傾向のことである。

【0046】

酵母の除去に用いてもよい沈降分離法の例としては、沈殿、浮選、および、液体サイクロンでの分離が挙げられるが、浮選、および、液体サイクロンによる分離が好ましい。最も好ましくは、本発明の方法は、浮選を用いて、第2の未透過物中に含有されているPVP P P粒子から残存酵母を分離させる。沈殿という用語は、重力のみを用いて分離を行う分離を指すために使用する。

【0047】

粒子の浮選は、沈殿と同じ力平衡に支配される。浮選は、懸濁液中に異なる密度の粒子の混合物がある際の固体の分級に使用できる。本発明者らは、酵母細胞の沈降速度はPVP P P粒子の沈降速度より顕著に速い傾向があるため、酵母細胞からのPVP P P粒子の分離には浮選を有利に使用できることを見出している。

【0048】

したがって、とりわけ好ましい一態様によれば、第1の未透過物または第2の未透過物からの酵母の除去は、好ましくは、前記未透過物を含む液体を上向きの層流中で分離容器に通すことを含み、酵母に富む画分とPVP P Pに富む画分とを別々に除去することにより、前記PVP P Pに富む画分は、酵母に富む画分が除去される場所である下流で（かつその上で）除去される。用語「分離容器」は、本明細書において使用する場合、狭義に解釈されるべきではなく、その理由は、容器は適切には、たとえば、起立型の管の形状を取っていてもよいからであることは理解されよう。

【0049】

PVP P P粒子と酵母細胞との有効な分離を達成するために、第2の未透過物を含有する液体は、垂流速度0.01~10mm/s、より好ましくは0.04~3mm/sで分離容器を通すことが好ましい。

【0050】

液体サイクロンも、適切には、第2の未透過物中に含有されているPVP P P粒子から残存酵母を分離させるために使用してもよい。液体サイクロンは、液体の懸濁液中の粒子を、粒子の密度に基づいて分級、分離、または分類するための装置である。液体サイクロンは、普通、液体が接線方向に供給される最上部の円筒部分と、円錐形の基部とを有する。液体サイクロンには軸上に2つの出口があり、底部にある方が小さく（アンダーフローまたは拒絶側）、最上部にある方が大きい（オーバーフローまたは受入側）。アンダーフローの方が一般に比重の重いまたは粘性の高い画分であり、オーバーフローの方が比重の軽いまたは流動性の高い画分である。

【0051】

本発明の方法においては、第1の未透過物の沈降分離により作製されるPVP P Pに富む画分を、続いて、第2のメンブランフィルターで濾過する。第2の未透過物の沈降分離により得られるPVP P Pに富む画分を、ステップbに再循環させる。

【0052】

本発明の方法で用いる沈降分離により、好ましくは、PVP P P粒子対酵母の重量比が酵母に富む画分における同重量比より実質的に高い、PVP P Pに富む画分が得られる。したがって、好ましい一態様において、PVP P P粒子対PVP P Pに富む画分の酵母の重量比は、酵母に富む画分の同重量比より3倍以上、より好ましくは5倍以上高い。

【0053】

同様に、酵母に富む画分の酵母濃度は、PVP P Pに富む画分における同濃度より3倍以上、好ましくは5倍以上高い。

【0054】

本発明の方法は、バッチ工程、半連続工程、または連続工程として実施してもよい。好ましくは、本方法は、バッチ工程として実施する。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 5 】

本発明を、以下の非限定的な例を用いてさらに例証する。

【 0 0 5 6 】

[実施例]

1 回使い切り用の P V P P 粒子 (P o l y c l a r (登録商標) 1 0 、 供給元 : I S P) の新しく調製したスラリーを、膜濾過 (細孔径 0 . 5 μ m) の前に、H e i n e k e n (登録商標) の安定化させていないビールに投入した。メンブランフィルター (フィルター面積は 1 0 m²) を用いた 8 h l / 時での濾過の 3 時間後、未透過物中のスラリーを水ですすいでビールを除去した。

【 0 0 5 7 】

続いて、未透過物を、2 % N a O H 溶液に酸化剤として 0 . 2 % 次亜塩素酸ナトリウムを合わせたものを用いて温度 4 0 ° C にて 2 0 分間すすいで、P V P P を再生させた。濾液が清澄になった時点で、P V P P を含有する未透過物を、水、酸、および水のステップですすいだ。次のビール濾過を再開し、続いて、時間内に圧力を上昇させた。この試験を、次亜塩素酸ナトリウムの代わりに 0 . 5 % 過硫酸ナトリウムを酸化剤として、さらに、1 回使い切り用 (P o l y c l a r (登録商標) 1 0) の代わりに再生可能な P V P P (D i v e r g a n (登録商標) R S 、 供給元 : B A S F) を用いて、繰り返した。

【 0 0 5 8 】

表 1 は、メンブランフィルターで行った P V P P 再生の前および後におけるビールの濾過中の開始圧力 (P) および時間当たりの圧力上昇 ($d P / d t$) を示すものである。結果は、P V P P を苛性剤のみで再生させると、次の濾過における時間当たりの圧力上昇および開始圧力は、酸化剤を使用した場合 (次亜塩素酸塩と P o l y c l a r (登録商標) 1 0 との組合せ、過硫酸塩と D i v e r g a n (登録商標) R S との組合せ) より、はるかに高いことを示している。このことは、P V P P から放出された破片がメンブランフィルターを遮断したという事実により説明できる。酸化剤を苛性剤再生と共に用いると、メンブランフィルターのそのような汚れを最小限に抑えることができる。

10

20

【表 1】

表1.同一のフィルターで実行したPVPP再生ステップの前および後におけるビールの濾過中のメンブランフィルター上の圧力上昇					
2%苛性剤のみを用いたPolyclar(登録商標)10の再生についての試験					
	開始時間 (時:分)	ΔP_{start} (bar)	終了時間 (時:分)	ΔP_{end} (bar)	d $\Delta P/dt$ (bar/時)
再生前	0:00	0.290	3:13	0.82	0.16
再生後	0:00	0.737	0:40	1.02	0.42
2%苛性剤および0.2%次亜塩素酸ナトリウムを用いた Polyclar(登録商標)10の再生についての試験					
	開始時間 (時:分)	ΔP (bar)	終了時間 (時:分)	ΔP (bar)	d $\Delta P/dt$ (bar/時)
再生前	0:00	0.229	3:19	0.423	0.06
再生後	0:00	0.269	1:29	0.504	0.16
2%苛性剤および0.5%過硫酸ナトリウムを用いた Divergan(登録商標)RSの再生についての試験					
	開始時間 (時:分)	ΔP (bar)	終了時間 (時:分)	ΔP (bar)	d $\Delta P/dt$ (bar/時)
再生前	0:00	0.310	2:42	0.420	0.04
再生後	0:00	0.369	0:59	0.456	0.09

10

20

30

【0059】

新鮮な未使用のPVPPスラリー、および、再生後のPVPPを含有する未透過物の試料を採取して、吸着能を測定した。新鮮な未使用の1回使い切り用PVPP(Polyclar(登録商標)10)の吸着能は、カテキン溶液を規定量のPVPPと接触させ、この溶液中のカテキンの減少量を吸着能の測定値とする標準的な分析により測定したところ、63.8%であった。次亜塩素酸ナトリウムを用いる前述のとおりの手順により再生したPVPPの吸着能は、58.9%であった。使用済のPVPPの吸着能は約5~8%であった。

【0060】

再生用のPVPP(Divergan(登録商標)RS)では、新鮮なPVPP、および、過硫酸ナトリウムで再生したPVPPの吸着能は、それぞれ44.4%、42.4%であった。使用済のPVPPの吸着能は14%であった。

40

フロントページの続き

- (74)代理人 100109830
弁理士 福原 淑弘
- (74)代理人 100088683
弁理士 中村 誠
- (74)代理人 100103034
弁理士 野河 信久
- (74)代理人 100095441
弁理士 白根 俊郎
- (74)代理人 100075672
弁理士 峰 隆司
- (74)代理人 100119976
弁理士 幸長 保次郎
- (74)代理人 100153051
弁理士 河野 直樹
- (74)代理人 100140176
弁理士 砂川 克
- (74)代理人 100158805
弁理士 井関 守三
- (74)代理人 100124394
弁理士 佐藤 立志
- (74)代理人 100112807
弁理士 岡田 貴志
- (74)代理人 100111073
弁理士 堀内 美保子
- (74)代理人 100134290
弁理士 竹内 将訓
- (72)発明者 ノールドマン、トム・レイノード
オランダ国、2 3 4 3 ピーシー・オエグストゲースト、ケルクベルベラーン 1 7
- (72)発明者 ファン・デア・ノールド、マルセル
オランダ国、3 2 4 1 エーエム・ミッデルハルニス、ルーベンスブレイン 7 7
- (72)発明者 リヒター、アンネケ
オランダ国、2 3 1 8 エーエス・レイデン、フルストベス 1

審査官 名和 大輔

- (56)参考文献 特開平02-150263(JP,A)
特表平09-511907(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12C 1/00-13/10
C12H 1/00-1/22
Thomson Innovation