



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116064458 A

(43) 申请公布日 2023.05.05

(21) 申请号 202211698237.2

(22) 申请日 2022.12.28

(71) 申请人 成都佳世海生物科技有限公司

地址 610000 四川省成都市温江区成都海
峡两岸科技产业开发园兴新支路79号

(72) 发明人 何璧梅

(74) 专利代理机构 深圳信科专利代理事务所

(普通合伙) 44500

专利代理师 林兵

(51) Int. Cl.

C12N 9/10 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/465 (2006.01)

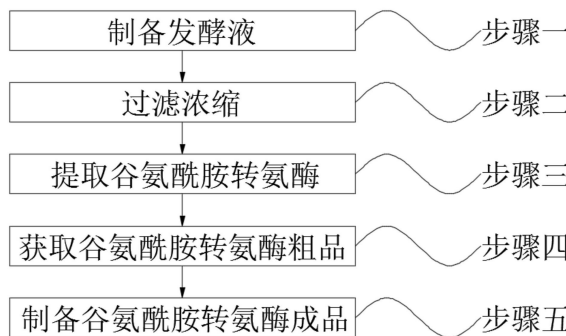
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,包括以下步骤:步骤一,制备发酵液;步骤二,过滤浓缩;步骤三,提取谷氨酰胺转氨酶;步骤四,获取谷氨酰胺转氨酶粗品;步骤五,制备谷氨酰胺转氨酶成品;所述步骤二中,浓缩液中谷氨酰胺转氨酶活性约100U/ml;所述步骤三中,聚乙二醇的质量百分比浓度为5%-50%;所述步骤三中,静置时间为24h;所述步骤五中,合格品的混合物酶活性为100u/g±10%;本发明采用聚乙二醇提取茂原链霉菌发酵液中的谷氨酰胺转氨酶,克服了现有技术中有机媒液沉淀法和盐析法的缺陷,工艺更为简单安全,且对环境友好,具有提取收率高、生产成本低的优点,为其更广泛的使用提供有利条件。



1. 一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,包括以下步骤:步骤一,制备发酵液;步骤二,过滤浓缩;步骤三,提取谷氨酰胺转氨酶;步骤四,获取谷氨酰胺转氨酶粗品;步骤五,制备谷氨酰胺转氨酶成品;其特征在于:

其中在上述步骤一中,具体包括以下步骤:

1.1制备种子液:取茂原链霉菌孢子接种于含种子培养基的种子罐中,培养24-48h后,得到种子液;

1.2制备发酵液:将种子液接种于内装发酵培养基的发酵罐中,培养40-60h后,得到发酵液;

其中在上述步骤二中,取步骤1.2中制备的发酵液,经板框过滤后,得到滤液,将滤液经微滤和超滤处理,浓缩5-10倍后得到浓缩液;

其中在上述步骤三中,在10-15℃条件下,取步骤二中制备的浓缩液,一边向其中加入聚乙二醇,一边进行搅拌,当聚乙二醇完全溶解后,静置一段时间,弃上清液后离心,得到谷氨酰胺转氨酶沉淀物;

其中在上述步骤四中,取步骤三中制备的谷氨酰胺转氨酶沉淀物,经冷冻干燥处理后,得到谷氨酰胺转氨酶粗品;

其中在上述步骤五中,取步骤四中制备的谷氨酰胺转氨酶粗品,按照产品要求加入一定量载体,充分混合后测定混合物酶活性,合格品包装贮存。

2. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤1.1中,培养条件为:培养温度28-30℃;搅拌转速100-250转/分;通气量1:0.3-0.6 (v/v)。

3. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤1.2中,培养条件为:培养温度28-30℃;搅拌转速100-200转/分;通气量1:0.5-0.8 (v/v)。

4. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤二中,浓缩液中谷氨酰胺转氨酶活性约100U/ml。

5. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤三中,聚乙二醇的质量百分比浓度为5%-50%。

6. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤三中,静置时间为24h。

7. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤五中,合格品的混合物酶活性为100u/g±10%。

8. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤五中,包装规格为1kg/袋。

9. 根据权利要求1所述的一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,其特征在于:所述步骤五中,载体为淀粉和糊精。

一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物酶制剂生产技术领域,具体为一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法。

背景技术

[0002] 谷氨酰胺转氨酶广泛存在于动物(包括人类)、植物和微生物中。它是一种酰基转移酶,通过催化蛋白质分子间及分子内发生酰基转移反应,从而引起蛋白质(或多肽)之间发生共价交联。这种交联对蛋白质的性质、凝胶能力、热稳定性和持水力等有显著影响,从而改善蛋白质食品的起泡性、可塑性、持水性;并且能催化各种必需氨基酸与蛋白质的交联,能提高蛋白质的营养价值。由于其高度的专一性和安全性、卓越的交联特性,它被广泛地运用在肉制品、水产品、豆制品、面制品、米制品和乳制品等食品加工业中。近年来随着对此酶应用的深入研究,发现它在医药、日用化工、制革、纺织等领域均有广泛用途。

[0003] 在现有技术中,关于谷氨酰胺转氨酶的提取方法包括以下两种:一是有机媒溶沉淀法:即采用乙醇沉淀或丙酮沉淀法。此法虽然简单,但生产过程中使用了易燃易爆物质,存在严重的安全隐患;二是盐析法:即采用饱和硫酸铵、饱和硫酸钠、饱和氯化钠等盐析,使用此法得到的沉淀物要用大量纯水透析脱盐,然后才能在食品加工业或其它行业中应用,工艺较为复杂。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,以解决上述背景技术中提出的问题。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,包括以下步骤:步骤一,制备发酵液;步骤二,过滤浓缩;步骤三,提取谷氨酰胺转氨酶;步骤四,获取谷氨酰胺转氨酶粗品;步骤五,制备谷氨酰胺转氨酶成品;

[0006] 其中在上述步骤一中,具体包括以下步骤:

[0007] 1.1制备种子液:取茂原链霉菌孢子接种于含种子培养基的种子罐中,培养24-48h后,得到种子液;

[0008] 1.2制备发酵液:将种子液接种于内装发酵培养基的发酵罐中,培养40-60h后,得到发酵液;

[0009] 其中在上述步骤二中,取步骤1.2中制备的发酵液,经板框过滤后,得到滤液,将滤液经微滤和超滤处理,浓缩5-10倍后得到浓缩液;

[0010] 其中在上述步骤三中,在10-15℃条件下,取步骤二中制备的浓缩液,一边向其中加入聚乙二醇,一边进行搅拌,当聚乙二醇完全溶解后,静置一段时间,弃上清液后离心,得到谷氨酰胺转氨酶沉淀物;

[0011] 其中在上述步骤四中,取步骤三中制备的谷氨酰胺转氨酶沉淀物,经冷冻干燥处理后,得到谷氨酰胺转氨酶粗品;

[0012] 其中在上述步骤五中,取步骤四中制备的谷氨酰胺转氨酶粗品,按照产品要求加入一定量载体,充分混合后测定混合物酶活性,合格品包装贮存。

[0013] 优选的,所述步骤1.1中,培养条件为:培养温度28-30℃;搅拌转速100-250转/分;通气量1:0.3-0.6(v/v)。

[0014] 优选的,所述步骤1.2中,培养条件为:培养温度28-30℃;搅拌转速100-200转/分;通气量1:0.5-0.8(v/v)。

[0015] 优选的,所述步骤二中,浓缩液中谷氨酰胺转氨酶活性约100U/ml。

[0016] 优选的,所述步骤三中,聚乙二醇的质量百分比浓度为5%-50%。

[0017] 优选的,所述步骤三中,静置时间为24h。

[0018] 优选的,所述步骤五中,合格品的混合物酶活性为100u/g \pm 10%。

[0019] 优选的,所述步骤五中,包装规格为1kg/袋。

[0020] 优选的,所述步骤五中,载体为淀粉和糊精。

[0021] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本发明采用聚乙二醇提取茂原链霉菌发酵液中的谷氨酰胺转氨酶,克服了现有技术中有机媒溶沉淀法和盐析法的缺陷,工艺更为简单安全,且对环境友好,具有提取收率高、生产成本低的优点,为其更广泛的使用提供有利条件。

附图说明

[0022] 图1为本发明的方法流程图。

具体实施方式

[0023] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0024] 请参阅图1,本发明提供一种技术方案:

[0025] 实施例1

[0026] 一种采用聚乙二醇提取谷氨酰胺转氨酶的方法,包括以下步骤:步骤一,制备发酵液;步骤二,过滤浓缩;步骤三,提取谷氨酰胺转氨酶;步骤四,获取谷氨酰胺转氨酶粗品;步骤五,制备谷氨酰胺转氨酶成品;

[0027] 其中在上述步骤一中,具体包括以下步骤:

[0028] 1.1制备种子液:取茂原链霉菌孢子接种于含种子培养基的种子罐中,培养48h后,得到种子液;其中,培养条件为:培养温度28-30℃;

[0029] 搅拌转速100-250转/分;通气量1:0.3-0.6(v/v);

[0030] 1.2制备发酵液:将种子液接种于内装发酵培养基的发酵罐中,培养60h后,得到发酵液;其中,培养条件为:培养温度28-30℃;搅拌转速100-200转/分;通气量1:0.5-0.8(v/v);

[0031] 其中在上述步骤二中,取步骤1.2中制备的发酵液,经板框过滤后,得到滤液,将滤液经微滤和超滤处理,浓缩5-10倍后得到浓缩液,浓缩液中谷氨酰胺转氨酶活性约100U/

ml;

[0032] 其中在上述步骤三中,在10-15℃条件下,取步骤二中制备的浓缩液10L,一边向其中加入1kg食品级聚乙二醇400,一边进行搅拌,当食品级聚乙二醇400完全溶解后,静置24h,弃上清液后离心,得到谷氨酰胺转氨酶沉淀物;

[0033] 其中在上述步骤四中,取步骤三中制备的谷氨酰胺转氨酶沉淀物,经冷冻干燥处理后,得到谷氨酰胺转氨酶粗品;

[0034] 其中在上述步骤五中,取步骤四中制备的谷氨酰胺转氨酶粗品,按照产品要求加入一定量的淀粉和糊精,充分混合后测定混合物酶活性,合格品包装贮存;其中,合格品的混合物酶活性为100u/g±10%,包装规格为1kg/袋。

[0035] 实施例2

[0036] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400的添加量改为2kg。

[0037] 实施例3

[0038] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400的添加量改为3kg。

[0039] 实施例4

[0040] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇2000。

[0041] 实施例5

[0042] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇2000,将添加量改为2kg。

[0043] 实施例6

[0044] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇2000,将添加量改为3kg。

[0045] 实施例7

[0046] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇4000。

[0047] 实施例8

[0048] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇4000,将添加量改为2kg。

[0049] 实施例9

[0050] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇4000,将添加量改为3kg。

[0051] 实施例10

[0052] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇8000。

[0053] 实施例11

[0054] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇8000,将添加量改为2kg。

[0055] 实施例12

[0056] 谷氨酰胺转氨酶的提取方法与实施例1相同,只将步骤三中食品级聚乙二醇400改为食品级聚乙二醇8000,将添加量改为3kg。

[0057] 基于上述,本发明的优点在于,该发明通过在茂原链霉菌发酵液的浓缩液中添加一定浓度的聚乙二醇,使浓缩液中的谷氨酰胺转氨酶沉淀,再通过液固分离得到固态的谷氨酰胺转氨酶;该过程不使用有机溶媒如乙醇、丙酮;不使用盐析如饱和硫酸铵、硫化钠、氯化钠;也不使用有机酸,因此生产工艺简单安全,且对环境友好。

[0058] 对于本领域技术人员而言,显然本发明不限于上述示范性实施例的细节,而且在不背离本发明的精神或基本特征的情况下,能够以其他的具体形式实现本发明。因此,无论从哪一点来看,均应将实施例看作是示范性的,而且是非限制性的,本发明的范围由所附权利要求而不是上述说明限定,因此旨在将落在权利要求的等同要件的含义和范围内的所有变化囊括在本发明内。不应将权利要求中的任何附图标记视为限制所涉及的权利要求。

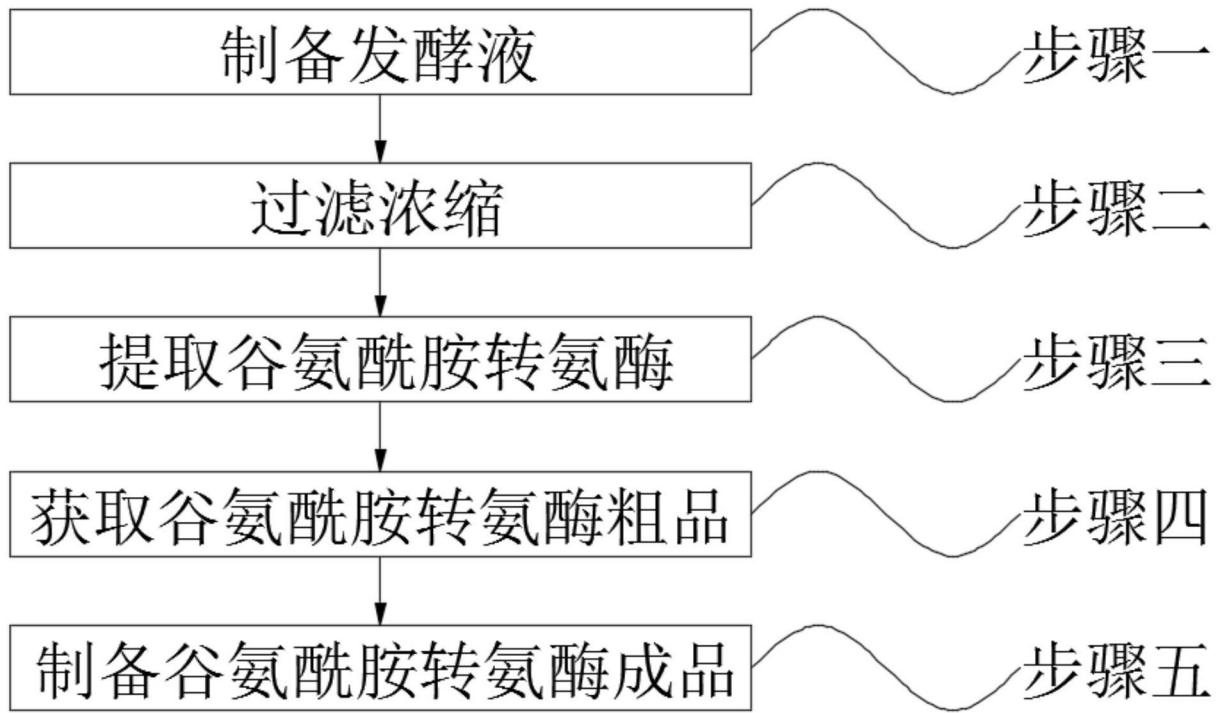


图1