(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117940553 A
(43)申请公布日 2024.04.26

(21)申请号 202280061423.7

(22)申请日 2022.07.12

(30)优先权数据
21185098.7 2021.07.12 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.03.11

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/069504 2022.07.12

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/285480 DE 2023.01.19

(71)申请人 伊士德股份公司
地址 瑞士布鲁格

(72)发明人 W·格里德尔 R·维尔普腾

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 章敏 张华

(51)Int.Cl.
C12N 1/06(2006.01)
C12R 1/865(2006.01)

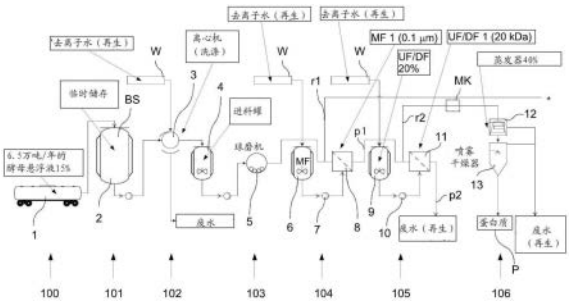
权利要求书2页 说明书9页 附图2页

(54)发明名称

从酵母中分离蛋白质和糖类的方法

(57)摘要

用于分解酵母,特别是啤酒酵母以分离蛋白质和糖类的方法,其包括步骤:a)提供酵母悬浮液,特别是啤酒酵母悬浮液;b)物理分解所述酵母悬浮液中的酵母;c)微滤来自步骤b)的分解的酵母悬浮液;d)超滤来自步骤c)的微滤的渗透物,其中作为超滤的渗余物分离出以蛋白质作为主要固体成分的相;e)在碱性条件下用蛋白酶处理来自步骤c)的微滤的渗余物,随后分离出以甘露聚糖作为主要固体成分的相,特别是通过过滤和/或离心;f)首先在碱性条件下,然后在酸性条件下相继处理步骤e)中截留的相,随后分离出以葡聚糖作为主要固体成分的相,特别是通过过滤和/或离心。



CN 117940553 A

1.用于分解酵母,特别是啤酒酵母以分离蛋白质和糖类的方法,其包括步骤:

a)提供酵母悬浮液,特别是啤酒酵母悬浮液;

b)物理分解所述酵母悬浮液中的酵母;

c)微滤来自步骤b)的分解的酵母悬浮液;

d)超滤来自步骤c)的微滤的渗透物,其中作为超滤的渗余物分离出以蛋白质作为主要固体成分的相;

e)在碱性条件下用蛋白酶处理来自步骤c)的微滤的渗余物,随后分离出以甘露聚糖作为主要固体成分的相,特别是通过过滤和/或离心;

f)首先在碱性条件下,然后在酸性条件下相继处理步骤e)中截留的相,随后分离出以葡聚糖作为主要固体成分的相,特别是通过过滤和/或离心。

2.根据权利要求1的方法,其中在步骤a)中提供的酵母悬浮液具有基于酵母悬浮液的总重量计5-30重量%,特别是7-20重量%的固含量。

3.根据前述权利要求任一项的方法,其中在步骤a)中提供的酵母悬浮液具有0-15℃,优选2-12℃,特别是3-7℃或5℃的温度。

4.根据前述权利要求任一项的方法,其中所述酵母悬浮液在步骤b)之前经受洗涤过程,其中所述酵母悬浮液的液相的至少一部分,特别是所述酵母悬浮液的液相的至少50重量%,特别是至少60重量%被另一液体,特别是水替代。

5.根据前述权利要求任一项的方法,其中步骤b)中的物理分解在均化器或研磨介质磨机中,特别是在球磨机中进行。

6.根据前述权利要求任一项的方法,其中步骤b)中的物理分解通过脉冲电场进行。

7.根据权利要求6的方法,其中电场强度为1-30kV/cm,特别是5-24kV/cm,和/或比能量输入为1-180kJ/L,特别是3-120kJ/L。

8.根据前述权利要求任一项的方法,其中步骤c)中的微滤用孔径为0.1-0.5μm,优选0.1-0.2μm,特别是0.1μm的过滤器介质进行,并且其中步骤d)中的超滤用具有小于90nm的孔径和/或1-100kDa,特别是5-100kDa,优选10-50kDa,特别是15-25kDa,特别是20kDa的排阻极限的过滤器介质进行。

9.根据前述权利要求任一项的方法,其中步骤c)中的微滤和/或步骤d)中的超滤作为渗滤进行,其中在进料侧优选连续供应水。

10.根据前述权利要求任一项的方法,其中在步骤d)中分离出的以蛋白质作为主要固体成分的相在步骤d)之后干燥,特别是喷雾干燥。

11.根据前述权利要求任一项的方法,其中在步骤e)中,基于来自步骤c)的微滤的渗余物的固含量计,以0.0001-10重量%,特别是0.001-5重量%,特别是0.01-1重量%或0.05-0.5重量%的比例使用蛋白酶,其中所述蛋白酶优选是枯草杆菌蛋白酶,并且其中步骤e)中的处理在7.5-13,优选8-11,特别是8.5-10.5的pH值下和在40-80℃,优选50-70℃,特别是55-65℃的温度下进行。

12.根据前述权利要求任一项的方法,其中步骤e)中的蛋白酶处理持续10分钟至18小时,特别是3-12小时。

13.根据前述权利要求任一项的方法,其中在步骤f)中,所述截留的相在第一时间间隔中在7.5-13,优选8-11,特别是8.5-10.5的pH值和40-95℃,优选65-85℃,特别是75-85℃的

温度下处理优选1-5小时,随后在第二时间间隔中在2-6.5,优选3-5,特别是3.5-4.5的pH值和50-95℃,优选80-95℃,特别是80-90℃的温度下处理优选0.5-2小时。

14.根据权利要求13的方法,其中在步骤f)中第一时间间隔中的pH值对应于在步骤e)中的处理过程中存在的pH值,并且其中在步骤f)中第一时间间隔中的温度低于第二时间间隔中的温度,和/或第一时间间隔长于第二时间间隔。

15.根据前述权利要求任一项的方法,其中以甘露聚糖作为主要固体成分的相在步骤e)中的分离和/或以葡聚糖作为主要固体成分的相在步骤f)中的分离通过过滤,特别是组合的微滤和超滤进行。

16.根据权利要求15的方法,其中所述微滤用孔径为0.1-0.5μm,特别是0.1-0.2μm,优选0.1μm的过滤器介质进行,并且其中所述超滤用具有小于90nm的孔径和/或1-100kDa,特别是5-100kDa,优选10-50kDa,特别是15-25kDa,特别是20kDa的排阻极限的过滤器介质进行。

17.根据权利要求15-16任一项的方法,其中步骤e)中的微滤和/或步骤f)中的超滤作为渗滤进行。

18.根据前述权利要求任一项的方法,其中在步骤e)中分离出的以甘露聚糖作为主要固体成分的相在步骤e)之后干燥,特别是喷雾干燥,和/或其中在步骤f)中分离出的以葡聚糖作为主要固体成分的相在步骤f)之后干燥,特别是喷雾干燥。

从酵母中分离蛋白质和糖类的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于分解酵母,特别是啤酒酵母以分离蛋白质和糖类的方法。

现有技术

[0002] 酵母是通过萌发或分裂进行繁殖并且一直具有重要技术意义的单细胞真菌。例如,酵母用于生产啤酒、葡萄酒、烈酒、食品和治疗性物质。基本上有几种类型的酵母,其中所谓的面包酵母或啤酒酵母(酿酒酵母)是最常用的酵母之一。相应地,产生相当大量含酵母的副产物,特别是含啤酒酵母的副产物。

[0003] 由于酵母的细胞壁特别含有许多技术上有用的生物分子,如蛋白质、葡聚糖、甘露聚糖、甲壳质和脂质,以获得这些物质为目的加工含酵母的废物。在这种过程中,部分或完全分解酵母的细胞壁以释放感兴趣的物质。

[0004] 例如,EP 1990419 A1(Tex-a-tec AG)描述了从酵母中分离葡聚糖、蛋白质、甘露聚糖和脂质的方法,其中在相继步骤中在升高的温度下用超声波处理酵母。

[0005] EP 2272876 A1(Angel Yeast Co.,Ltd.)公开了从微生物,如酵母8440的细胞壁中提取葡聚糖和甘露聚糖的方法。该方法包括步骤:a)用碱性蛋白酶和甘露聚糖酶处理微生物的细胞;b)将来自步骤a)的混合物分离成重相和轻相;c)干燥获自步骤b)的重相以获得葡聚糖制剂;和d)干燥获自步骤b)的轻相以获得甘露聚糖制剂。该葡聚糖和甘露聚糖制剂旨在用于治疗应用。

[0006] WO 2010/070207 A1(Glykos Finland Oy)描述了制备包含糖成分的免疫刺激组合物的方法,其中所述方法包括水解酵母细胞和获得可溶成分的步骤。所得糖成分可作为食品或饮料组分掺入或用作药物。

[0007] 但是,迄今已知的用于从酵母中分离技术上有用的生物分子的方法并不完全令人信服,尤其是在工业大规模方法中。例如,产量与努力(尤其是在能量和时间要求方面)的比率在许多方法中并不令人满意,这使得经济的生产非常困难。

[0008] 另一些方法旨在选择性获得单个组分(例如葡聚糖或甘露聚糖),而忽略其余组分(例如蛋白质)。这就尽可能完全利用含酵母的副产物而言是不利的。

[0009] 因此仍然需要至少部分或完全克服所述缺点的改进的解决方案。

[0010] 发明公开

[0011] 本发明的目的是提供从酵母细胞,特别是啤酒酵母细胞中获得生物分子的改进方法。特别地,应该可以同时以尽可能高的收率和纯度分离几种不同的生物分子,尤其优选蛋白质、葡聚糖和甘露聚糖。该方法还应该能够在工业大规模方法中尽可能有效获得生物分子。希望该方法可以在尽可能低的能量和时间消耗下进行。

[0012] 通过权利要求1的特征界定该问题的解决方案。因此,本发明的核心是用于分解酵母,特别是啤酒酵母以分离蛋白质和糖类的方法,其包括步骤:

[0013] a)提供酵母悬浮液,特别是啤酒酵母悬浮液;

[0014] b)物理分解所述酵母悬浮液中的酵母;

[0015] c)微滤来自步骤b)的分解的酵母悬浮液;

[0016] d)超滤来自步骤c)的微滤的渗透物,其中作为超滤的渗余物分离出以蛋白质作为主要固体成分的相;

[0017] e)在碱性条件下用蛋白酶处理来自步骤c)的微滤的渗余物,随后分离出以甘露聚糖作为主要固体成分的相,特别是通过过滤和/或离心,

[0018] f)首先在碱性条件下,然后在酸性条件下相继处理步骤e)中截留的相,随后分离出以葡聚糖作为主要固体成分的相,特别是通过过滤和/或离心。

[0019] 令人惊讶地,已经表明,根据本发明的物理、化学和生物化学处理步骤的组合能够在相对低的能量和时间要求下实现良好的收率。这适用于所有产物,即蛋白质、葡聚糖和甘露聚糖,其中可以在高纯度下实现这些物质各自高达大约40%的收率。

[0020] 此外,该方法适用于工业大规模方法。可以毫无问题地加工每年几万吨酵母悬浮液或每小时几千公斤酵母悬浮液。

[0021] “葡聚糖”是由D-葡萄糖分子组成并通过糖苷键相互连接的低聚糖或多糖。如酵母细胞中存在的葡聚糖通常是具有β-糖苷键的β-葡聚糖,特别是β-1,3-葡聚糖。

[0022] “甘露聚糖”是作为糖,即甘露糖的聚合物的多糖。酵母中存在的甘露聚糖通常具有α(1-6)-连接的主链和平均大约两个糖单元长度的α(1-2)-和α(1-3)-连接的侧链。“微滤”是指通过具有≥0.1μm孔径的过滤介质,特别是膜进行过滤的方法。相比之下,超滤中的孔径小于0.1μm。

[0023] 除非另有说明,“固体成分”在每种情况下是指各自成分的干质量。术语“主要固体成分”是指具有最大重量比例的固体成分。

[0024] 在步骤a)中提供的酵母悬浮液特别是储存在0-15℃,优选2-12℃,特别是3-7℃或5℃的温度下的酵母悬浮液和/或巴氏灭菌的酵母悬浮液。这确保该悬浮液含有尽可能少的不想要的副产物。

[0025] 但是,原则上,在步骤a)中提供的酵母悬浮液也可以是储存在其它温度,特别是室温下并且未经巴氏灭菌的酵母悬浮液。

[0026] 酵母悬浮液特别是水性酵母悬浮液。水作为酵母悬浮液的连续液相存在。

[0027] 酵母悬浮液特别是啤酒酵母悬浮液,其优选含有用过的啤酒酵母。这样的啤酒酵母悬浮液例如作为啤酒生产中的副产物产生,并且可以直接用于根据本发明的方法。

[0028] 酵母悬浮液优选具有基于酵母悬浮液的总重量计5-30重量%,特别是7-20重量%的固含量。这已经证明特别适合于根据本发明的方法。任选地,酵母悬浮液的固含量可以用液体,特别是水调节到所需范围内。

[0029] 在步骤a)中,酵母悬浮液特别具有0-15℃,优选2-12℃,特别是3-7℃或5℃的温度。这确保悬浮液的组成不会例如由于活性酵母细胞而进一步改变,或确保减少不想要的副产物的形成。

[0030] 进一步优选地,步骤b)以及任选步骤c)和d)也在0-15℃,优选2-12℃,特别是3-7℃或5℃的温度下进行。这进一步减少不想要的副产物的形成。

[0031] 但是,原则上,步骤a)、b)、c)和/或d)中的酵母悬浮液也可以具有其它温度,例如室温。

[0032] 根据一个有利的实施方案,提供的酵母悬浮液在步骤b)之前经受洗涤过程,其中

酵母悬浮液的液相的至少一部分,特别是酵母悬浮液的液相的至少50重量%,特别是至少60重量%被另一液体或交换液体,特别是水交换。该洗涤过程优选在离心机或鼓式过滤器中进行。

[0033] 如果必要,洗涤过程可以减少液体中溶解的和不想要的成分的比例,由此可以改进待分离的物质的纯度和品质。但是,洗涤过程是任选的并且也可以省略。

[0034] 步骤b)中的物理分解特别通过电场、在均化器或研磨介质磨机中,尤其在球磨机中进行。

[0035] 均化器特别是高压均化器,其特别是在大于1000巴,特别大于1200巴的压力下运行。

[0036] 在研磨介质磨机中,待研磨的材料和可自由活动的研磨介质,特别是球在工艺室中循环。这导致研磨介质、工艺室的壁和待研磨的材料之间的碰撞。主要通过碾压使待研磨的材料粉碎。

[0037] 用研磨介质磨机,特别是球磨机进行分解已经证明在本情况中特别有利,因为可以温和但有效地释放要分离的蛋白质。这特别适用于啤酒酵母悬浮液。但是,其它物理分解方法也可用于特殊应用。

[0038] 在步骤b)中借助电场的物理分解特别可以借助脉冲电场(英语也称为PEF或“PulsedElectric Fields”)进行。这种分解技术本身是其它领域的技术人员已知的。

[0039] 在借助脉冲电场的处理中,将酵母悬浮液特别置于两个电极之间并用脉冲电场处理。脉冲电场的特征特别在于高场强和短持续时间。在细胞膜中发生可逆或不可逆的孔隙形成,由此释放细胞内成分和/或细胞外物质可以渗入细胞中。

[0040] 特别地,已经发现以下参数适合于控制酵母悬浮液中的酵母分解:电场强度[kV/cm]、酵母悬浮液的输入温度[℃]和比能量输入[kJ/L]。能量输入被理解为是该方法所需的能量,单位为千焦耳/升酵母悬浮液。此外,能量输入可以通过脉冲频率[Hz]控制,脉冲频率又取决于流量并且在已知系统中自动控制。

[0041] 优选地,电场强度为1-30kV/cm,特别是5-24kV/cm。

[0042] 优选地,比能量输入为1-180kJ/L,特别是3-120kJ/L。

[0043] 酵母悬浮液的输入温度优选为0-15℃,优选2-12℃,特别是3-7℃或5℃。

[0044] 利用这样的参数,可以有效地分解酵母悬浮液中的酵母。

[0045] 利用脉冲电场进行物理细胞分解的设备可商购自各种供应商,如PEF Pilot Dual设备(Elea-Technology;德国)。

[0046] 在借助脉冲电场的处理之后优选进行机械后处理。这因此优选在步骤b)和c)之间进行。

[0047] 机械后处理可以特别借助混合器,优选以高剪切力进行。转子-定子混合器,尤其是直列式转子-定子混合器特别合适。在直列式转子-定子混合器中,转子和定子通常包含在壳体中,所述壳体在一端具有入口并在另一端具有出口。待处理的酵母悬浮液由此可以在连续料流中通过混合器。

[0048] 特别地,选择在用混合器进行机械后处理的过程中的剪切速率,以使酵母细胞进一步分解。因此,在施加脉冲电场之后可能尚未完全释放的细胞内成分(蛋白质)可以被释放。高剪切力另外“挤出”已打开的酵母细胞,并且细胞内成分,特别是蛋白质可以从细胞中

脱出。

[0049] 步骤c)中的微滤优选用孔径为0.1-0.5μm,优选0.1-0.2μm,特别是0.1μm的过滤器介质进行。这已经证实特别优选,以在物理分解后就固含量而言实现要分离的蛋白质相对富集在渗透物中,同时生物质残渣,例如细胞碎片和脂肪富集在渗余物中。

[0050] 特别地,步骤c)中的微滤作为渗滤进行,其中交换液体,特别是水在进料侧优选连续供应。换言之,在渗滤过程中,作为渗透物排出的分解酵母悬浮液的液相优选在进料侧至少部分,特别是完全被交换液体,特别是水连续替代。

[0051] 特别地,分解的酵母悬浮液从进料仓循环。通过调节过滤器介质下游的流量,可以设定跨膜压力,其在渗滤中充当驱动力。

[0052] 渗滤优选在封闭回路中运行,以使渗透物的排出导致交换溶剂的续流,特别是以使得循环体积在渗滤过程中保持恒定。

[0053] 具体而言,步骤c)中的微滤优选如此进行,以使得来自步骤c)的微滤的渗透物中的蛋白质比例基于渗透物中的固体总重量计优选为至少50重量%,更优选50-80重量%,特别是60-70重量%。

[0054] 步骤c)中的微滤的渗透物中的总固含量优选为基于渗透物的总重量计1-10重量%,特别是3-7重量%。

[0055] 进一步优选地,步骤c)中的微滤这样进行,以使得来自步骤c)的微滤的渗余物中的蛋白质比例基于渗余物中的固体总重量计小于50重量%,优选小于40重量%,特别是小于35重量%。

[0056] 步骤c)中的微滤的渗余物中的总固含量优选为基于渗余物的总重量计20-50重量%,特别是25-30重量%。

[0057] 根据另一可能的实施方案,分解的酵母悬浮液在微滤步骤c)之前用氧化剂,特别是臭氧(0_3)和/或过氧化氢(H_20_2)处理。特别地,这可防止引起不想要的副产物和/或改变味道的化学反应。但是,用氧化剂处理是任选的。

[0058] 此外,分解的酵母悬浮液可以在微滤步骤c)之前进行酶促处理。如果需要,这可以提高该方法的效率和收率。但是,在微滤步骤c)之前的酶促处理是任选的。

[0059] 步骤d)中的超滤优选用具有小于90nm的孔径和/或1-100kDa,特别是5-100kDa,优选10-50kDa,特别是15-25kDa,特别是20kDa的排阻极限(标称截留分子量)的过滤器介质进行。排阻极限被定义为被过滤器介质,特别是膜以90%的程度截留的分子的最小分子质量。

[0060] 特别地,步骤d)中的超滤作为渗滤进行,其中交换液体,特别是水在进料侧优选连续供应。换言之,在步骤d)中的渗滤中,作为渗滤中的渗透物排出的来自步骤c)的微滤的渗透物的液相优选在进料侧至少部分,特别是完全被交换液体,特别是水连续替代。

[0061] 构成步骤d)中的进料的来自步骤c)的微滤的渗透物特别从进料仓循环。通过调节过滤器介质下游的流量,又可以设定跨膜压力,其在步骤d)中的渗滤中充当驱动力。

[0062] 步骤d)中的渗滤优选在封闭回路中运行,以使渗透物的排出导致交换液体的续流,特别以使得循环体积在渗滤过程中保持恒定。

[0063] 步骤d)中的超滤和渗滤可用于有针对性地提高渗余物中的蛋白质的相对固含量。

[0064] 优选地,步骤d)中的超滤如此进行,以使得在步骤d)中分离出的以蛋白质作为主要固体成分的相中的蛋白质比例为基于固体重量计至少75重量%,特别是至少85重量%,

优选至少90重量％。

[0065] 基于在步骤d)中分离出的相的总重量计,在步骤d)中分离出的相中的总固含量优选为0.5-7重量％,特别是1-3重量％。

[0066] 特别地,步骤c)中的微滤和步骤d)中的超滤都作为渗滤进行。

[0067] 特别优选地,在步骤d)中分离出的以蛋白质作为主要固体成分的相在步骤d)之后干燥,特别是喷雾干燥。因此,蛋白质可作为具有高纯度的粉末状产物获得。用于喷雾干燥的相应装置和方法本身是本领域技术人员已知的。

[0068] 特别优选地,在喷雾干燥前将固含量,尤其是蛋白质含量浓缩,特别是浓缩至至少50重量％,特别是至少60重量％,优选至少70重量％的固含量。该浓缩特别在部分蒸发液相的蒸发器中进行。用于浓缩的相应装置和方法本身是本领域技术人员已知的。

[0069] 任选地,在步骤d)中分离出的以蛋白质作为主要固体成分的相可以在步骤d)之后用氧化剂,特别是臭氧和/或过氧化氢处理,和/或与吸附剂材料,例如活性炭接触。以这种方式,特别地,可以改进蛋白质的产物品质。例如,可以化学分解和/或除去不想要的变色和/或调味剂。

[0070] 如果进行喷雾干燥,用氧化剂的处理和/或与吸附剂材料的接触优选在喷雾干燥之前进行,并且如果进行,在浓缩之前进行。

[0071] 用氧化剂的处理特别优选用膜接触器进行。在膜接触器中,发生质量交换的流体以被多孔膜分隔的方式被引导穿过彼此。在当前情况下,流体是在步骤d)中分离出的以蛋白质作为主要固体成分的相和氧化剂。氧化剂在膜接触器中穿过膜进入在步骤d)中分离出的以蛋白质作为主要固体成分的相。与其它接触器相比,膜接触器的使用在本情况中已经证明特别有利和有效。这特别是因为膜接触器中的压力损失和能量需求相对低,但氧化剂仍然可以非常有效地发挥其作用。

[0072] 在步骤e)中,使用蛋白酶。蛋白酶是可以水解裂解蛋白质的酶。蛋白酶也称为蛋白水解酶。

[0073] 优选地,在步骤e)中,基于来自步骤c)的微滤的渗余物的固含量计,以0.0001-10重量％,特别是0.001-5重量％,特别是0.01-1重量％或0.05-0.5重量％的含量使用蛋白酶。

[0074] 蛋白酶优选是碱性蛋白酶,特别是丝氨酸蛋白酶,尤其优选枯草杆菌蛋白酶。

[0075] 丝氨酸蛋白酶是在其活性中心具有氨基酸丝氨酸的蛋白酶亚家族。

[0076] 枯草杆菌蛋白酶类型的蛋白酶(枯草杆菌酶、枯草杆菌肽酶、EC 3.4.21.62)基于催化活性氨基酸而被归类为丝氨酸蛋白酶。它们由微生物,尤其是芽孢杆菌属天然形成和分泌。它们充当非特异性内肽酶,即它们水解位于肽或蛋白质内的任意酸酰胺键。它们的pH最佳值通常在明显碱性范围内。

[0077] 蛋白酶,特别是所提到的特定蛋白酶在本方法中已经证明极其有利。特别地,蛋白酶可以选择性释放甘露聚糖,所述甘露聚糖可以以含有甘露聚糖作为主要固体成分的液相形式分离出来。

[0078] 特别地,该方法在不添加甘露聚糖酶或不存在甘露聚糖酶的情况下进行。甘露聚糖酶是一种降解甘露聚糖的酶。

[0079] 步骤e)中的处理优选在7.5-13,优选8-11,特别是8.5-10.5的pH值下和/或在40-

80℃,优选50-70℃,特别是55-65℃的温度下进行。pH值优选根据所用蛋白酶进行调节。

[0080] 特别地,在步骤e)中,通过加入碱,优选具有小于4.75,特别小于1的pK_B值的碱来调节pH值。pK_B值代表碱常数K_B的负十进制对数。特别优选的是无机碱,尤其是NaOH。这样的碱已经证明特别合适。

[0081] 该碱优选以稀释形式使用,例如在水中30-60重量%的比例。

[0082] 特别地,步骤e)中的处理持续10分钟至18小时,尤其是3-12小时。这能够优化收率。

[0083] 在另一个实施方案中,在步骤e)中可以加工具有少量液体的糊状成分。因此,根据酵母悬浮液的组成和反应控制,可以在收率方面优化酶促步骤。

[0084] 在步骤f)中,截留的相优选在第一时间间隔中在7.5-13,优选8-11,特别是8.5-10.5的pH值下和/或在40-95℃,优选65-85℃,特别是75-85℃的温度下处理优选1-5小时。随后,截留的相优选在第二时间间隔中在2-6.5,优选3-5,特别是3.5-4.5的pH值下和/或在50-95℃,优选80-95℃,特别是80-90℃的温度下处理优选0.5-2小时。

[0085] 在步骤f)中提到的“步骤e)中截留的相”特别是指在步骤e)下分离出以甘露聚糖作为主要固体成分的相之后截留的相。特别地,“步骤e)中截留的相”因此对应于从中分离出以甘露聚糖作为主要固体成分的相的来自步骤c)的渗余物。

[0086] 如果在步骤e)中例如通过过滤分离出以甘露聚糖作为主要固体成分的相,在步骤f)中提到的“步骤e)中截留的相”特别是来自步骤e)的渗余物。在这种情况下,以甘露聚糖作为主要固体成分的相在步骤e)中形成渗透物,其被分离出来。

[0087] 特别优选地,在步骤f)中选择第一时间间隔中的pH值,以使其对应于在步骤e)中的处理过程中存在的pH值。

[0088] 进一步优选的是,在步骤f)中,第一时间间隔中的温度高于在步骤e)中的处理过程中存在的温度。

[0089] 优选地,在步骤f)中,第一时间间隔中的温度低于第二时间间隔中的温度,和/或第一时间间隔长于第二时间间隔。

[0090] 在步骤f)中,如果必要,通过加入碱,优选NaOH,和/或通过加入酸,优选H_2SO_4来调节pH值。

[0091] 优选地,该碱是与如上文在步骤e)中描述的碱。特别优选地,步骤f)中的碱是与步骤e)中相同的碱。

[0092] 该酸特别是具有小于4.75,特别小于1的pK_A值的酸。pK_A值代表酸常数K_A的负十进制对数。特别优选的是无机酸,尤其是H_2SO_4。

[0093] 该酸优选以稀释形式使用,例如在水中30-60重量%的比例。

[0094] 这些前述措施,尤其是组合的前述措施,已经证明在该方法的效率方面特别有利。

[0095] 以甘露聚糖作为主要固体成分的相在步骤e)中的分离优选通过过滤,特别是组合的微滤和超滤进行。同样地,以葡聚糖作为主要固体成分的相在步骤f)中的分离优选通过过滤,特别是组合的微滤和超滤进行。

[0096] 在步骤e)中分离出含有甘露聚糖的相之后留下的相特别作为“截留相”在步骤f)中进一步处理。

[0097] 微滤优选在每种情况下用孔径为0.1-0.5μm,特别是0.1-0.2μm,优选0.1μm的过滤

器介质进行。超滤优选在每种情况下用具有小于90nm的孔径和/或1-100kDa,特别是5-100kDa,优选10-50kDa,特别是15-25kDa,特别是20kDa的排阻极限(标称截留分子量)的过滤器介质进行。

[0098] 步骤e)中的微滤和/或步骤f)中的超滤优选作为渗滤进行,特别是以对步骤c)和d)描述的相同方式进行。

[0099] 在此,在步骤e)中,特别地,以甘露聚糖作为主要固体成分的相以微滤的渗透物的形式排出,供入超滤,并且超滤的渗余物中的甘露聚糖的相对比例提高。

[0100] 在步骤f)中,特别地,以葡聚糖作为主要固体成分的相以微滤的渗透物的形式排出,供入超滤,并且超滤的渗余物中的葡聚糖的相对比例提高。

[0101] 在步骤e)和/或f)中的渗滤过程中,液体特别从进行步骤e)和/或f)的反应容器循环,其中交换液体在进料侧优选连续供应。

[0102] 根据另一个有利的实施方案,步骤e)和/或f)中的分离通过鼓式过滤器和/或离心机进行。在步骤f)中特别如此。

[0103] 因此,在一个特定实施方案中,步骤e)中的分离通过如上所述的组合的微滤和超滤进行,并且步骤f)中的分离通过鼓式过滤器和/或离心机,特别是离心机进行。

[0104] 优选地,在步骤e)中分离出的以甘露聚糖作为主要固体成分的相在步骤e)之后干燥,特别是喷雾干燥,和/或在步骤f)中分离出的以葡聚糖作为主要固体成分的相在步骤f)之后干燥,特别是喷雾干燥。因此,甘露聚糖和葡聚糖都可作为具有高纯度的粉末状产物获得。

[0105] 优选地,在喷雾干燥前将固含量,特别是甘露聚糖和/或葡聚糖含量浓缩,特别是通过使用蒸发器。

[0106] 任选地,在步骤e)中分离出的以甘露聚糖作为主要固体成分的相可以在步骤e)之后用氧化剂,特别是臭氧和/或过氧化氢处理,和/或与吸附剂材料,例如活性炭接触。

[0107] 同样地,在步骤f)中分离出的以葡聚糖作为主要固体成分的相可以任选在步骤f)之后用氧化剂,特别是臭氧和/或过氧化氢处理,和/或与吸附剂材料,例如活性炭接触。

[0108] 如同蛋白质分离,由此可以改进甘露聚糖和/或葡聚糖的产物品质。

[0109] 如果在步骤e)和/或f)之后进行喷雾干燥,用氧化剂的处理和/或与吸附剂材料的接触优选在喷雾干燥之前进行,并且如果进行,在浓缩之前进行。

[0110] 用氧化剂的处理特别优选用膜接触器进行。在这方面的优点已经在上文中结合蛋白质料流作出描述。

[0111] 本发明的进一步有利的实施方案和特征组合由下面的详述和专利权利要求书的整体得出。

[0112] 附图简述

[0113] 用于解释实施例的图1和2显示根据本发明的用于分解啤酒酵母以分离蛋白质(P)、甘露聚糖(M)和葡聚糖(G)的方法的方法流程图。

[0114] 原则上,在附图中对相同部件给出相同的附图标记。

[0115] 本发明的实施方式

[0116] 图1和2显示根据本发明的用于分解啤酒酵母以分离蛋白质(P)、甘露聚糖(M)和葡聚糖(G)的方法的方法流程图。

[0117] 在第一步骤100中,通过罐式卡车1运送经冷却的水性啤酒酵母悬浮液BS(温度=5℃,固体浓度=15重量%),以在后续步骤101中临时储存在5℃的储罐2中。

[0118] 然后在离心机3中对啤酒酵母悬浮液BS施以洗涤过程102。在这一过程中,啤酒酵母悬浮液BS的液相被水W替代,并供入进料罐4。

[0119] 然后将洗涤过的啤酒酵母悬浮液从进料罐4供入球磨机5,在此悬浮液中的啤酒酵母细胞在下一方法步骤103中进行物理分解。然后对分解的啤酒酵母悬浮液施以微滤步骤104。微滤用孔径为0.1μm的过滤器介质作为渗滤进行。通过泵7使分解的啤酒酵母悬浮液从进料仓6循环经过微滤器8,其中水W作为交换液体在进料侧连续供应。可通过渗透物流出量调节的跨膜压力为大约1.5巴。基于渗透物p1中的固体总重量计,微滤的渗透物p1中的蛋白质比例为例如60-70重量%。

[0120] 然后对微滤步骤104的渗透物p1施以超滤步骤105。超滤使用具有20kDa的排阻极限(标称截留分子量)的过滤器介质作为渗滤进行。在这一过程中,使用泵10使渗透物p1从另一进料仓9循环经过超滤器11,其中水W作为交换液体在进料侧连续供应。可通过渗透物流出量调节的跨膜压力为大约2巴。超滤步骤105提高渗余物r2中的蛋白质的相对固含量,以使蛋白质的固含量基于留下的渗余物r2中的总固含量计为大约90重量%。

[0121] 超滤步骤105的渗透物p2作为废水排出(如果需要,其可以再加工)。

[0122] 对以蛋白质作为主要固体成分的超滤步骤105的渗余物r2施以干燥过程106,其中渗余物r2在通过蒸发器12之后供入喷雾干燥装置13。由此得到作为粉末状产物P的蛋白质。

[0123] 基于啤酒酵母悬浮液BS中可得蛋白质的含量计,整个方法中的蛋白质收率为大约38重量%。

[0124] 来自微滤过程104的渗余物r1进行进一步的逐步酶促处理和化学处理,这显示在图2中。图2通过星号(*)标记的位置连接到图1中的星号标记位置。

[0125] 在蛋白水解消解步骤107中,渗余物r1在反应器14中用0.2重量%(基于渗余物r1的固含量计)的枯草杆菌蛋白酶形式的蛋白酶E处理例如8小时。该处理在大约9.5的pH值下进行,其中通过加入45%NaOH水溶液形式的碱B调节pH值,并且在蛋白酶处理过程中保持恒定。

[0126] 蛋白水解消解选择性地释放甘露聚糖,其随后通过微滤和下游超滤以含有甘露聚糖作为主要固体成分的水相的形式分离出来。微滤和超滤都作为渗滤进行。在微滤过程中,通过泵15使待过滤的液体从反应器14循环经过微滤过滤器16(孔径:0.1μm),其中交换液体在进料侧连续供应。来自微滤的渗透物然后供入超滤阶段的进料仓17,从此处借助泵18使液体循环经过超滤器19(排阻极限:20kDa)。超滤提高超滤阶段的渗余物中的甘露聚糖的相对固含量,以使甘露聚糖的固含量基于留下的渗余物中的总固含量计为大约65重量%。来自超滤阶段的渗透物作为废水排出(如果需要,其可以再加工)。

[0127] 对以甘露聚糖作为主要固体成分的超滤阶段的渗余物施以干燥过程110,其中渗余物在通过蒸发器20之后供入喷雾干燥装置21。由此得到作为粉末状产物M的甘露聚糖。

[0128] 基于啤酒酵母悬浮液BS中可得甘露聚糖的含量计,整个方法中的甘露聚糖收率为大约39重量%。

[0129] 然后将截留在反应器14中的相加热至大约80℃的温度,并在大约3小时的第一时间间隔内在9.5的pH值下进行碱性萃取108。通过受控加入稀NaOH而使pH值保持恒定。

[0130] 随后将温度再次升高至大约85℃,并通过加入在水中的50％H_2SO_4而将pH值降低至4的值。随后在1小时的时间间隔内对截留在反应器中的相进行酸性萃取109。

[0131] 在进行碱性和酸性萃取后,以用于甘露聚糖的类似方式经由两个过滤器阶段(微滤器16和超滤器18)通过渗滤分离出以葡聚糖作为主要成分的液相。由此实现基于渗滤阶段的渗余物中的总固含量计大约72重量％的葡聚糖固含量。

[0132] 也对以葡聚糖作为主要固体成分的超滤阶段的渗余物施以干燥过程110,其中渗余物在通过蒸发器20之后供入喷雾干燥装置21。由此得到作为粉末状产物G的甘露聚糖。

[0133] 基于啤酒酵母悬浮液BS中可得葡聚糖的含量计,整个方法中的葡聚糖收率为大约42重量％。

[0134] 但是,本发明不限于所示实施例。这因此可以在本发明的范围内任意修改。

[0135] 例如,可以使用其它酵母悬浮液代替啤酒酵母悬浮液。同样可以省略非强制性的方法步骤,如洗涤过程102。此外,细胞分解可以通过脉冲电场而非使用球磨机5进行。尤其还可以用鼓式过滤器或离心机代替所述过滤器阶段(微滤器16和超滤器18)分离出甘露聚糖和/或葡聚糖。

[0136] 此外,可以任选在蒸发器12的上游和/或蒸发器20的上游提供膜接触器MK或MK'。这使得相应的相能够在喷雾干燥之前用氧化剂,例如臭氧和/或过氧化氢处理。

[0137] 总之发现,提供了用于分解酵母,特别是啤酒酵母以分离蛋白质和糖类的新型和特别有利的方法,其特别适用于工业大规模方法。

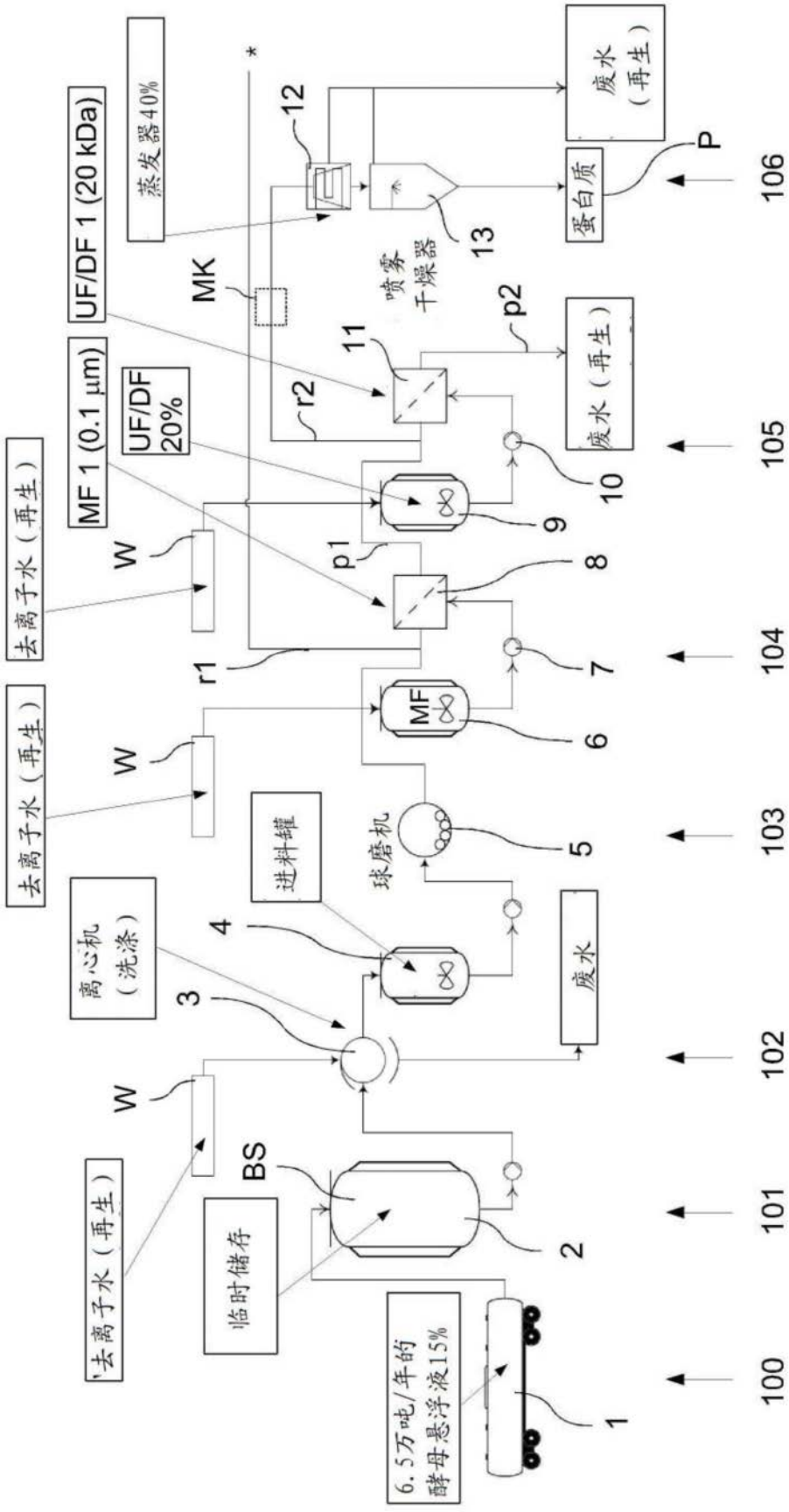

6.5万吨/年的酵母悬浮液15%
临时储存
去离子水（再生）
去离子水（再生）
去离子水（再生）
离心机（洗涤）
进料罐
球磨机
MF
MF 1 (0.1 μm)
UF/DF 1 (20 kDa)
UF/DF 20%
蒸发器40%
喷雾干燥器
蛋白质
废水
废水（再生）
废水（再生）
BS
MK
W
P
p1
p2
r1
r2
100
101
102
103
104
105
106

图1

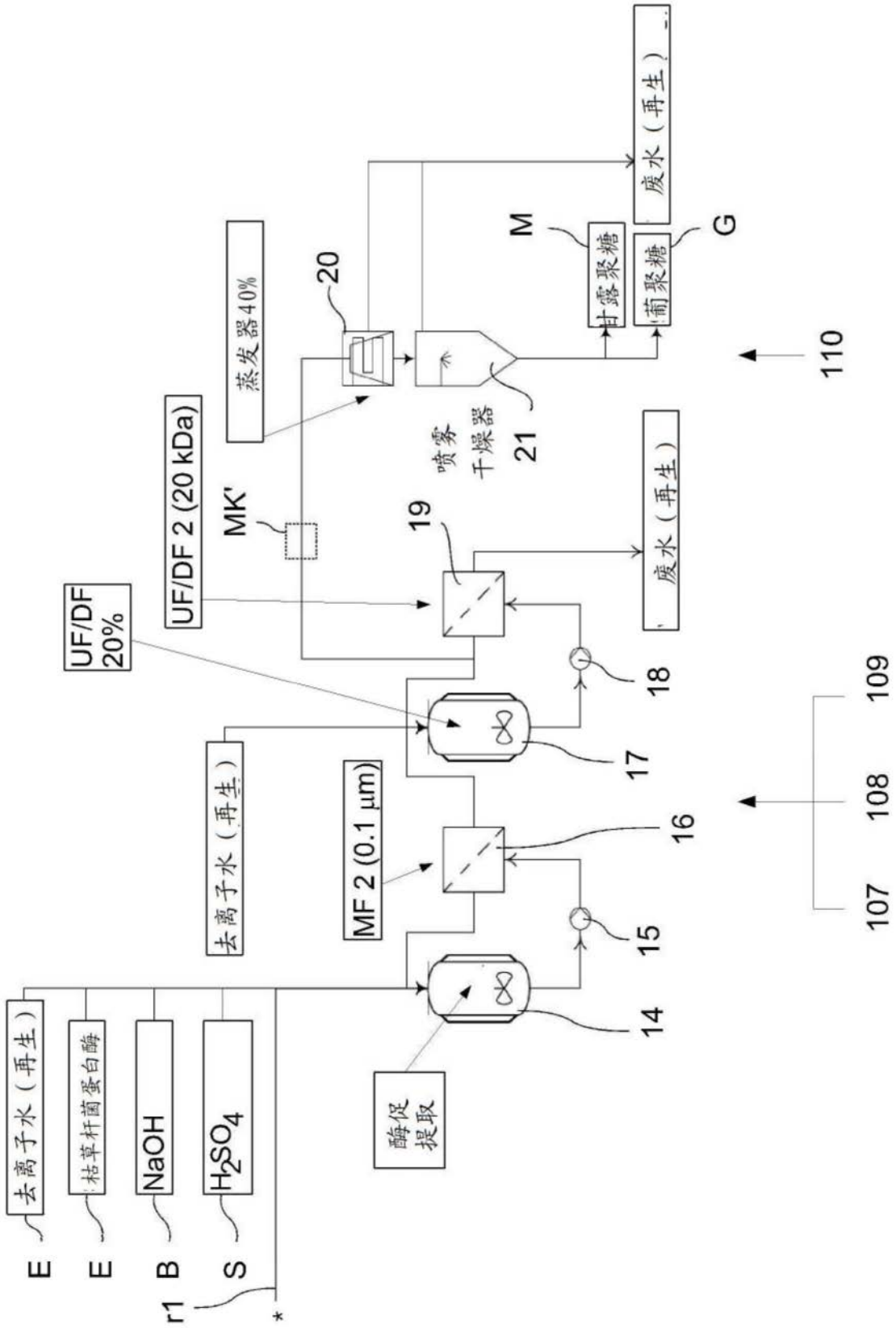

去离子水（再生）
枯草杆菌蛋白酶
NaOH
H_2SO_4
酶促提取
去离子水（再生）
MF 2 (0.1 μm)
UF/DF 2 (20 kDa)
UF/DF 20%
MK'
蒸发器40%
喷雾干燥器
废水（再生）
废水（再生）
甘露聚糖
葡聚糖
E
E
B
S
r1
*
14
15
16
17
18
19
20
21
M
G
107
108
109
110

图2