Octrooiraad

(12) A **Terinzagelegging** (11) **8600936**

Nederland (19) **NL**

(54) **Werkwijze voor het bereiden van amylose.**

(51) Int.Cl⁴.: C12P 19/16, C12P 19/14.

(71) Aanvrager: Coöperatieve Verkoop- en Productievereniging van Aardappelmeel en Derivaten Avebe B.A. te Veendam.

(74) Gem.: Ir. Th.A.H.J. Smulders c.s.
Vereenigde Octrooibureaux
Nieuwe Parklaan 107
2587 BP 's-Gravenhage.

(21) Aanvrage Nr. 8600936.

(22) Ingediend 14 april 1986.

(32) - -

(33) - -

(31) - -

(62) - -

(43) Ter inzage gelegd 2 november 1987.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

VO 8161

Uitvinders: Frederik Simon Kaper
Jan Aten

Titel: Werkwijze voor het bereiden van amylose

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het bereiden van langketenige en kortketenige amylose uit amylosebevattende zetmelen.

De meeste zetmeelsoorten bestaan uit een mengsel van ongeveer 25 gewichtsprocent nagenoeg lineaire amylosemolekulen en 75 gewichtsprocent sterk vertakte amylopectinemolekulen. Er is een betrekkelijk groot aantal methoden bekend om amylose en amylopectine van elkaar te scheiden. Geen van deze methoden bleek echter uiteindelijk op industriële schaal economisch uitvoerbaar te zijn. Amylopectine kan men in nagenoeg zuivere toestand winnen in de vorm van de waxy zetmelen. Tot nu toe zijn in de natuur echter geen zetmeelsoorten ontdekt die uitsluitend uit amylose bestaan. Amylose heeft voortreffelijke filmvormende en gelerende eigenschappen en is voor een groot aantal toepassingen uitmuntend geschikt. Er is dus een grote behoefte aan een economisch uitvoerbare methode voor de bereiding van amylose uit zetmeel. Onderhavige uitvinding heeft als doel een werkwijze te verschaffen voor de bereiding van langketenige en kortketenige amylose uit zetmeel. De werkwijze volgens de uitvinding heeft als kenmerk dat men een zetmeeloplossing behandelt met een alfa-1,6-glucosidase zodanig dat de DE (Dextrose-Equivalent) beneden 2 blijft, het reactiemengsel vervolgens kortstondig met alfa-amylase behandelt zodanig dat de DE van het zetmeelhydrolysaat beneden 5 blijft, daarna de langketenige amylose uit de oplossing laat neerslaan en het neerslag uit de oplossing afscheidt. Na het laten neerslaan en afscheiden van de langketenige amylose kan men ook nog de kortketenige amylose laten neerslaan en uit de oplossing afscheiden. Het is echter ook mogelijk, om de na de afscheiding van de langketenige amylose resterende oplossing in zijn geheel verder te verwerken (bijvoorbeeld door drogen en/of verder hydrolyseren) zonder aparte afscheiding van de kortketenige amylose.

Als uitgangsmateriaal kunnen in principe alle amylose-bevattende zetmeelsoorten toegepast worden. Voor de werkwijze volgens de uitvinding wordt echter de voorkeur gegeven aan de knol- en wortelzetmeelsoorten, in het bijzonder aan aardappelzetmeel. Aardappelzetmeel heeft een zeer laag vetgehalte en bevat amylose met een relatief hoge polymerisatiegraad. Eén en ander is beschreven door J.J.M.Swinkels in Starch/Stärke, 37 (1985), Nr.1, p. 1-5.

Het zetmeel kan volgens de bekende technieken in water verstijfseld en opgelost worden bijvoorbeeld door middel van een stoominjectieapparaat (jet-cooker) bij 100-200°C. De zetmeelconcentratie van de verkregen zetmeeloplossing bedraagt bij voorkeur 10-30 gewichtsprocent.

Alvorens de alfa-1,6-glucosidase toe te voegen laat men de zetmeeloplossing afkoelen tot de temperatuur die voor het betreffende enzym geschikt is. Gewoonlijk ligt deze temperatuur tussen 40 en 70°C. Alfa-1,6-glucosidase wordt ook vaak aangeduid als het onttakkingsenzym. Onder de alfa-1,6-glucusidasen worden zowel de isoamylasen als de pullulanasen gerekend. Alfa-1,6-glucosidasen zijn in staat om de 1,6-glucosidische bindingen (vertakkingspunten) van de amylopectinemoleculen te hydrolyseren. Hierdoor wordt de amylopectine voor een groot gedeelte omgezet in korte lineaire ketens met een polymerisatiegraad van 10-60. Deze polymerisatiegraad is zeer gering in vergelijking met die van de langketenige amylose die gewoonlijk tussen 200 en 5000 ligt. De korte lineaire ketens worden hier aangeduid als kortketenige amylose. In principe kunnen alle alfa-1,6-glucosidasen toegepast worden bij de werkwijze volgens de uitvinding. Bijzonder geschikt is de alfa-1,6-glucosidase geïsoleerd uit de bacterie Bacillus acidopullulyticus, die ook nog bij een relatief hoge temperatuur van 60°C. werkzaam is. Doordat men bij relatief hoge temperatuur kan werken, is de zetmeeloplossing minder viskeus en treedt minder retrogradatie op. De inwerking van de alfa-1,6-glucosidase duurt bij voorkeur 1-5 uur.

De DE van het hydrolysaat is daarna minder dan 2 en bij voorkeur minder dan 1. Daarna laat men kortstondig (bijvoorbeeld 1-15 minuten) alfa-amylase op de oplossing inwerken, zodanig dat de DE van het hydrolysaat bij voorkeur niet meer dan 5 bedraagt. Hierdoor daalt de viscositeit van de oplossing en wordt de precipitatie en separatie van de amylosefracties vergemakkelijkt. De hydrolyse door alfa-amylase wordt gestopt door het inactiveren van het enzym door pH-verlaging of verhitting. Daarna laat men de oplossing een aantal uren staan waardoor eerst de langketenige amylosefractie neerslaat. Het neerslag kan via de gebruikelijke methoden uit de oplossing afgescheiden worden bijvoorbeeld door decanteren, filtreren of centrifugeren. Het neerslag kan worden gewassen met water en vervolgens worden gedroogd. De opbrengst van de langketenige amylosefractie bedraagt 10-25 gewichtsprocent van het zetmeeluitgangsmateriaal (op basis van de droge stof). Het product bestaat voor meer dan 70 gewichtsprocent uit langketenige amylosemoleculen met een polymerisatiegraad van bijvoorbeeld 100 tot 1500 en een gemiddelde polymerisatiegraad van bijvoorbeeld ongeveer 500.
Na de afscheiding van de langketenige amylosefractie resteert een oplossing waaruit de kortketenige amylose bij verder bewaren bij verlaagde temperatuur neerslaat. Het verkregen neerslag kan door decanteren, filtreren of centrifugeren uit de oplossing worden afgescheiden, met koud water gewassen worden en tenslotte worden gedroogd. De resterende oplossing bevat nog min of meer vertakte dextrinen met relatief laag molecuulgewicht. Deze oplossing kan worden gedroogd bijvoorbeeld door sproeidrogen.

De langketenige amylosefractie of derivaten daarvan kunnen worden toegepast in verpakkingsmaterialen (amylosefilm) als coating op vruchten, levensmiddelen en farmaca, in noodles en andere deegwaren, als sterkmiddel voor glasvezels en andere vezels, als complexvormer voor diverse stoffen, in capsules (gelatinevervanger) en tabletten (vul- en bindmiddel)

en als geleermiddel in levensmiddelen, farmaca en cosmetica. Verder is de langketenige amylosefractie of derivaten daarvan geschikt als component in tabletten, capsules e.d. voor de gecontroleerde afgifte (substained release) van actieve stoffen.

De kortketenige amylose kan toegepast worden in diverse levensmiddelen zoals bakwaren.

Voorbeeld

Een suspensie van aardappelzetmeel in water (23 gewichtsprocent droge stof) werd door middel van een jetcooker bij 155°C verstijfseld. Na afkoeling tot 58°C, liet men gedurende 3 uur bij pH 5,2 alfa-1,6-glucosidase (geïsoleerd uit Baxillus acidopululyticus) op de zetmeeloplossing inwerken. Hierbij werd de amylopectinefractie grotendeels omgezet in laagmolekulaire (kortketenige) amylose.

De toename van het reducerend vermogen was zeer gering (DE-beneden 1) hetgeen er op wijst dat het alfa-1,6-glucosidase-preparaat onder deze condities geen alfa-amylase-activiteit bezit. Vervolgens liet men bij 50°C en bij pH 5,5 gedurende 10 minuten alfa-amylase op de oplossing inwerken.

Vrijwel direct na de toevoeging van de alfa-amylase ontstond een melkachtige structuur en daalde de viscositeit snel.

De alfa-amylase werd geïnactiveerd door de pH te verlagen tot 3. De DE van het zetmeelhydrolysaat bedroeg 3. Vervolgens liet men bij 40°C gedurende 10 uur de langketenige amylose uit de oplossing neerslaan. Het neerslag werd vervolgens afgefiltreerd, gewassen met water en gedroogd. De hoeveelheid geïsoleerde langketenige amylosefractie bedroeg 18 gewichtsprocent van het gewicht van het aardappelzetmeel (op droge stof berekend).De fractie bevatte 75 gewichtsprocent amylosemoleculen met een gemiddelde polymerisatiegraad van 700. Na de afscheiding van de langketenige amylosefractie liet men de resterende oplossing afkoelen tot 20°C.

Na 18 uur had zich in de oplossing een neerslag gevormd van kortketenige amylose. Dit neerslag werd door filtratie afgescheiden, met koud water gewassen en tenslotte gedroogd.
De hoeveelheid geïsoleerde kortketenige amylosefractie bedroeg 50 gewichtsprocent van het gewicht van het aardappelzetmeel (berekend op droge stof).
Deze fractie bevatte 80 gewichtsprocent amylosemoleculen met een gemiddelde polymerisatiegraad van 20. In de na de afscheiding van de kortketenige amylosefractie resterende oplossing bevonden zich nog lagere suikers en vertakte dextrinemoleculen. Deze oplossing werd gesproeidroogd.

C O N C L U S I E S

1. Werkwijze voor het bereiden van amylose uit zetmeel m e t h e t k e n m e r k, dat men een zetmeeloplossing behandelt met een alfa-1,6-glucosidase zodanig dat de DE beneden 2 blijft, het reactiemengsel vervolgens kortstondig met alfa-amylase behandelt zodanig dat de DE van het zetmeelhydrolysaat beneden 5 blijft, daarna de langketenige amylose uit de oplossing laat neerslaan en het neerslag van de oplossing afscheidt.

2. Werkwijze volgens conclusie 1 m e t h e t k e n m e r k, dat men na de afscheiding van de langketenige amylose vervolgens de kortketenige amylose uit de resterende oplossing laat neerslaan en het neerslag van de oplossing afscheidt.

3. Werkwijze volgens conclusie 1 m e t h e t k e n m e r k, dat men alfa-1,6-glucosidase toepast dat afkomstig is van Bacillus acidopullulyticus.