



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년08월31일
 (11) 등록번호 10-1773215
 (24) 등록일자 2017년08월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 19/04 (2006.01) *B01D 61/14* (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2012-7018524
 (22) 출원일자(국제) 2010년12월13일
 심사청구일자 2015년12월11일
 (85) 번역문제출일자 2012년07월16일
 (65) 공개번호 10-2012-0120234
 (43) 공개일자 2012년11월01일
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2010/069518
 (87) 국제공개번호 WO 2011/082973
 국제공개일자 2011년07월14일
 (30) 우선권주장
 09179716.7 2009년12월17일
 유럽특허청(EPO)(EP)
 61/287,224 2009년12월17일 미국(US)

(73) 특허권자
빈터샬 홀딩 게엠베하
 독일 34119 카셀 프리드리히-에버트-스트라세 160
 (72) 발명자
테레 외르크
 독일 67551 보름스 팔찌 스트라세 50
포스 하르트비크
 독일 67227 프란켄탈 바인비트링 19
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
김진희

(56) 선행기술조사문헌
 WO2003016545 A2*
 Membrane Technology, Vol. 2003, pp. 5-8
 (2003.)*
 Membrane Science and Technology, Vol. 13, pp.
 177-216 (2008.)
 Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol. 82, pp.
 321-331 (2009.)
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 11 항

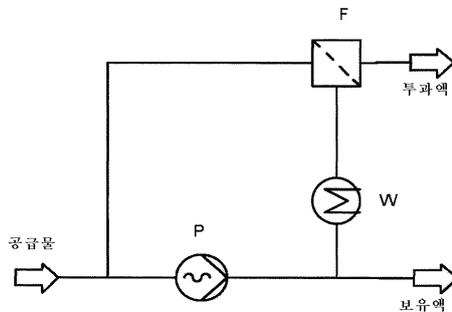
심사관 : 황상필

(54) 발명의 명칭 **단일 다당류의 제조 방법**

(57) 요약

본 발명은 β -1,3-글리코시드 결합을 갖는 주쇄, 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합된 측쇄 기를 갖는 글루칸을 발효액 내로 분비하는 진균 균주를 수성 배양 배지에서 발효시킴으로써 상기 글루칸의 수용액을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 상기 발효액으로부터의 글루칸의 분리는 비대칭 필터 막에 의해 일어난다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

쉬미트 줄리아 크리스티아네

독일 69115 하이델베르크 베르가이머 스트라세 60

파우스트 티만

독일 67256 바이젠하임 암 잔트 파르크베크 4

홀만 라안

독일 49152 바트 에센 아호른베크 2아

명세서

청구범위

청구항 1

β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 주쇄, 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합된 측쇄 기를 갖는 글루칸의 수용액을 제조하는 방법으로서, 상기 구조의 글루칸을 분비하는 진균 균주를 수성 배양 배지에서 발효시키는 단계, 및 글루칸 및 생체물질 모두를 포함하는 수성 발효액으로부터 그 생성된 글루칸의 수용액을 직교류 정밀여과(crossflow microfiltration)에 의해 후속 분리하는 단계를 포함하고, 여과하고자 하는 발효액 중의 글루칸의 농도가 3 g/l 이상이며, 상기 직교류 정밀여과에 있어서는 지지체 재료로 된 하나 이상의 층 및 하나 이상의 분리 층을 포함하는 비대칭 필터 막이 사용되며, 상기 분리 층의 공극 크기가 1 μ m 내지 10 μ m이고, 상기 지지체 재료의 공극 크기가 5 μ m 내지 100 μ m이며, 단, 상기 지지체 재료의 공극 크기가 상기 분리 층의 공극 크기보다 1 μ m 이상 더 크고, 직교류의 유속이 0.2 m/s 내지 20 m/s이며, 막투과 압력이 0.1 bar 내지 10 bar인 것인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 지지체 재료의 공극 크기가 분리 층의 공극 크기보다 5 μ m 이상 더 큰 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 발효는 통기 및 무브먼트(movement)와 함께 15°C 내지 40°C의 온도에서 수행하는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 진균 균주가 쉬조필룸 콤포문(*Schizophyllum commune*) 또는 스클레로티움 롤프시이(*Sclerotium rolfsii*)인 방법.

청구항 5

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 세라믹 비대칭 필터 막이 사용되는 것인 방법.

청구항 6

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 비대칭 금속 필터 막이 사용되는 것인 방법.

청구항 7

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 비대칭 필터 막으로서 다중채널 부재(multichannel elements)가 사용되는 것인 방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 비대칭 필터 막이 정기적으로 역세정되는 것인 방법.

청구항 10

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 발효가 하나 이상의 발효 용기를 포함하는 플랜트에서 수행되고, 생체물질 및 글루칸을 포함하는 발효액이 측류(side stream)를 통해 상기 플랜트로부터 회수되며, 글루칸의 수용액이 직교류 정밀여과에 의해 상기 발효액으로부터 분리되고, 생체물질을 포함하는 잔류 발효액의 적어도 일부가 상기 발효 용기 내로 재순환되는 것인 방법.

청구항 11

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 막은 과산화수소와 알칼리의 혼합물로 정기적 간격으로 세정하고, 단, 상기 세정은 각각의 경우 각각의 선행 세정 이후 m^2 막 면적 당 50 kg의 투과액 내지 m^2 막 면적 당 5,000 kg의 투과액의 양에 도달하자마자 수행하는 것인 방법.

청구항 12

제1항, 제2항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 막은 차아염소산염과 알칼리의 혼합물로 정기적 간격으로 세정하고, 단, 상기 세정은 각각의 경우 각각의 선행 세정 이후 m^2 막 면적 당 50 kg의 투과액 내지 m^2 막 면적 당 5,000 kg의 투과액의 양에 도달하자마자 수행하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 주쇄 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합된 측쇄 기를 갖는 글루칸을 발효액 내로 분비하는 진균 균주를 수성 배양 배지에서 발효시킴으로써 상기 글루칸의 수용액을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 이때 상기 발효액으로부터의 상기 글루칸의 분리는 비대칭 필터막의 이용에 의해 수행된다.

배경 기술

[0002] 천연 광유(mineral oil) 퇴적물에서, 광유는 불투과성 덮개 층에 의해 토양 표면으로부터 차단되어 있는 다공성 저장 바위의 공동(cavity) 내에 존재한다. 상기 공동은 매우 미세한 공동, 모세관, 공극 등일 수 있다. 미세한 공극 경부의 직경은 예를 들면, 단지 약 1 μm 일 수 있다. 천연 기체 분획을 포함하는 광유 이외에, 퇴적물은 염 함량이 보다 높거나 보다 낮은 물을 포함한다.

[0003] 광유 생산에서, 일차 생산, 이차 생산 및 삼차 생산이 구별된다.

[0004] 일차 생산에서, 유정(well)이 퇴적물 내로 함몰된 후, 광유는 상기 퇴적물의 자가발생 압력으로 인해 상기 유정을 통해 표면까지 저절로 유동한다. 그러나, 일반적으로 퇴적물에 존재하는 광유의 양(퇴적물의 유형에 의해 좌우됨)의 약 5% 내지 10%만이 일차 생산에 의해 추출될 수 있고, 그 후 자가발생 압력은 추출을 위해 더 이상 충분하지 않다.

[0005] 따라서, 이차 생산이 일차 생산 후에 이용된다. 이차 생산에서, 소위 생산 유정인 광유 생산에 기여하는 유정 이외에 추가 유정을 광유 보유 암층(formation) 내로 천공한다. 압력을 유지하거나 다시 증가시키기 위해 물 및/또는 증기를 이들 소위 주입 유정을 통해 퇴적물 내로 주입시킨다. 물의 주입에 의해, 광유는 주입 유정으로부터 시작하여 암층 내의 공동을 통해 생산 유정의 방향으로 서서히 주입된다. 그러나, 이것은 공동이 완전히 오일로 충전되어 있고 물이 그의 전면에서 보다 높은 점성의 오일을 밀어내는 경우에만 작용한다. 저점성 물은 공동을 통해 침투하자마자 이 시점부터 최소 저항의 경로를 따라, 즉 주입 유정과 생산 유정 사이의 생성된 채널을 통해 유동하고 그의 전면에서 오일을 더 이상 밀어내지 않는다. 일반적으로, 퇴적물에 존재하는 광유의 양의 약 30% 내지 35%만이 일차 생산 및 이차 생산에 의해 추출될 수 있다.

[0006] 광유 수율이 삼차 오일 생산 수단에 의해 더 증가될 수 있다는 것은 공지되어 있다. 삼차 오일 생산은 적합한 화학물질을 오일 생산을 위한 보조제로서 이용하는 공정을 포함한다. 이들은 소위 "중합체 분출(flooding)"을 포함한다. 중합체 분출에서, 물 대신에 비후 효과를 나타내는 중합체의 수용액을 주입 유정을 통해 광유 퇴적물 내로 주입시킨다. 상기 중합체 용액의 주입에 의해, 광유는 주입 유정으로부터 시작하여 암층 내의 상기 공동을 통해 생산 유정의 방향으로 주입되고, 광유는 최종적으로 생산 유정을 통해 추출된다. 광유의 점도에 맞게 조정된 상기 중합체 용액의 높은 점도로 인해, 상기 중합체 용액은 순수한 물의 경우와 달리 공동을 더 이상 통과할 수 없거나 적어도 용이하게 통과할 수 없다.

[0007] 다수의 상이한 수용성 중합체들, 즉 합성 중합체, 예컨대, 폴리아크릴아미드 또는 아크릴아미드 및 다른 단량체를 포함하는 공중합체, 및 천연 유래의 수용성 중합체들이 중합체 분출용으로 제안되었다.

[0008] 삼차 오일 생산에 적합한 비후 중합체는 다수의 특정 요건을 충족시켜야 한다. 상기 중합체는 충분한 점도 이외에 열적으로 매우 안정해야 하고 심지어 높은 염 농도에서도 그의 비후 효과를 보유해야 한다.

- [0009] 중합체 분출을 위한 천연 유래의 중합체의 중요한 부류는 글루코스로부터 수득된 분지쇄 단일 다당류를 포함한다. 글루코스 유닛을 포함하는 다당류는 글루칸으로도 지칭된다. 상기 분지쇄 단일 다당류는 β -1,3-결합된 글루코스 유닛들로 구성된 주쇄를 갖고, 상기 글루코스 유닛들 중 (통계학적 관점에서) 약 세 번째 유닛마다 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 결합된 추가 글루코스 유닛을 갖는다. 이러한 분지쇄 단일 다당류의 수용액은 유리한 물리화학적 성질을 가지므로, 중합체 분출에 특히 적합하다.
- [0010] 상기 구조의 단일 다당류는 다양한 진균 균주, 예를 들면, 사상성(filamentous) 성장을 나타내고 성장 동안 전형적인 분자량 M_w 가 약 5 내지 약 $25 \cdot 10^6$ g/mol인 상기 구조의 단일 다당류(속명: 쉬조필란(schizophyllan))를 분비하는 바시디오마이세트(Basidiomycetes) 쉬조필룸 콤문(*Schizophyllum commune*)에 의해 분비된다. 나아가, 스크레로티움 롤프시(*Sclerotium rolfisii*)에 의해 분비되는 상기 구조의 단일 다당류(속명: 스크레로글루칸(scleroglucan))도 언급될 수 있다.
- [0011] 이 목적을 위해, 이용되는 중합체 수용액이 겔 입자 또는 다른 소립자를 전혀 포함하지 않는다는 것은 중합체 분출을 위해 중요하다. 마이크론 범위 내의 치수를 갖는 소수의 입자조차도 광유 암층 내의 미세한 공극을 폐쇄하여 적어도 광유 생산을 복잡하게 하거나 심지어 중단시킬 수 있다. 따라서, 삼차 광유 생산을 위한 중합체는 가능한 작은 비율의 겔 입자 또는 다른 소립자를 갖는다.
- [0012] 따라서, 중합체 분출에 이용되기 위해, 상기 단일 다당류의 용액이 세포 및 세포 단편을 실질적으로 함유하지 않는 것이 중요한데, 이는 상기 세포 및 세포 단편이 광유 암층을 폐쇄하여 광유의 추출을 복잡하게 하거나 심지어 불가능하게 만들기 때문이다. 소위 밀리포어 여과 비(MPFR 값)는 중합체 용액의 우수한 질에 대한 특징으로서 이용될 수 있다. 필터 저항성이 용액의 여과 동안 시간의 경과에 따라 변화는 방식이 여기에서 확인된다.
- [0013] β -1,3-결합된 글루코스 유닛을 포함하는 분지쇄 단일 다당류의 제조 방법은 공지되어 있다.
- [0014] 유럽 특허출원 공보 제271 907 A2호, 유럽 특허출원 공보 제504 673 A1호 및 독일 특허출원 공보 제40 12 238 A1호는 상기 제조 방법, 즉 교반 및 통기를 수행하면서 진균 쉬조필룸 콤문을 회분식으로 발효시킴으로써 수행되는 제조 방법을 개시한다. 배양 배지는 실질적으로 글루코스, 효모 추출물, 인산이수소칼륨, 황산마그네슘 및 물을 포함한다. 유럽 특허출원 공보 제271 907 A2호는 다당류의 단리 방법을 기술하는데, 이때 먼저 배양 현탁액을 원심분리하고 이소프로판올을 이용하여 다당류를 상청액으로부터 침전시킨다. 제2 방법은 압력 여과 후 수득된 용액의 환외여과를 포함하지만, 이 방법의 세부사항은 개시되어 있지 않다.
- [0015] 문헌[Udo Rau, "Biosynthese, Produktion und Eigenschaften von extrazellulären Pilz-Glucanen", Habilitationsschrift, Technical University of Brunswick, 1997, pages 70 to 95]은 연속식 또는 회분식 발효에 의한 쉬조필란의 제조를 기술한다. 쉬조필란은 직교류 여과에 의해 분리될 수 있다(상기 문헌 제75면). 세포 물질을 분리하기 위해, 공극 직경이 0.5 μ m, 2 μ m, 10 μ m 및 20 μ m인 다양한 스테인레스 강 막이 시험되었다. 그러나, 2 μ m 막을 이용한 경우, 0.5 g/l의 글루칸 및 0.5 g/l의 건조 생체물질을 포함하는 용액에 의해 단지 작은 투과 속도가 수득되었다. 더욱이, 약 0.1 g/ml의 농도로 균사 단편이 잔류하였다. 따라서, 제2 초미세 정화 단계가 제안되었다(상기 문헌 제94면). 이러한 방법은 매우 복잡할 뿐만 아니라 스테인레스 강 막은 매우 비싸다.
- [0016] 문헌[Udo Rau, Biopolymers, Editor A. Steinbuechel, Volume 6, pages 63 to 79, WILEY-VCH Publishers, New York, 2002]은 연속식 또는 회분식 발효에 의한 쉬조필란의 제조를 기술한다. 세포 및 세포 단편 무함유 쉬조필란의 회수를 위해 원심분리 및 직교류 정밀여과(crossflow microfiltration)가 권장된다(상기 문헌 제78면, 단락 10.1). 직교류 정밀여과를 위해, 상기 문헌에서 공극 크기가 10 μ m인 소결된 스테인레스 강 막의 이용이 제안된다. 그러나, 이로써 수득된 투과액은 정용여과(diafiltration)에 의해 다시 정제되어야 하고 임의적으로 직교류 정밀여과에 의해 더 정제되어야 한다(상기 문헌 제78면, 단락 10.2). 이러한 방법은 매우 복잡할 뿐만 아니라 스테인레스 강 막은 매우 비싸다.
- [0017] 문헌[GIT Fachzeitung Labor 12/92, pages 1233 - 1238]은 세포 재순환을 이용한 분지쇄 β -1,3-글루칸의 연속 제조를 기술한다. 먼저, 발효 순환으로부터 분지쇄 β -1,3-글루칸을 분리하기 위해 공극 크기가 200 μ m인 스테인레스 강 막에 의한 직교류 여과가 제안된다. 그러나, 수득된 중합체 함유 투과액은 여전히 다량의 세포 단편으로 오염되어 있고 제2 단계에서 후속 정제되어야 한다. 유리 섬유 침층(deep-bed) 필터를 이용하는 침층 여과, 3 단계 압력 여과 및 원심분리가 이 목적을 위해 제안된다. 제2 정제 단계를 위한 추가 방법으로서, 저자들은 세라믹 막의 직교류 여과를 조사하였으나 성공하지 못하였다. 상기 저자들은 그들의 실험 결과로서 직교류 정밀여과가 균사체 함유 고점도 배양 현탁액의 세포 분리에 적합하지 않다는 결론을 내렸다. 수득된 투과액은

최종적으로 제3 정제 단계에서 정용여과에 의해 후속 정제된다. 그러나, 이러한 3 단계 공정은 매우 복잡하므로 산업적 생산 공정용으로 부적합하다.

[0018] 국제 특허출원 공보 제WO 03/016545 A2호는 스크레로티움 볼프시이를 이용하는 스크레로글루칸의 연속적 제조 방법을 개시한다. 정제를 위해, 공극 크기가 20 μm 인 스테인레스 강 필터를 이용하여 7 m/s 이상의 막투과 (transmembrane) 유속으로 수행하는 직교류 여과가 기재되어 있다. 그러나, 20 μm 필터는 매우 작은 입자의 분리를 위해 충분하지 않다.

[0019] 원칙적으로 미세 입자의 제거가 보다 미세한 필터 막의 이용에 의해 개선될 수 있다는 것은 사실이다. 그러나, 공극 크기가 감소함에 따라, 필터 막은 원치 않는 방식으로 글루칸, 특히 분자량이 매우 높은 분획도 점차 보유한다. 나아가, 보다 미세한 막은 보다 높은 필터 압력을 요구하므로 과도한 물리적 하중이 진균에 인가될 수 있는 위험이 증가한다. 제조될 중합체가 세포의 파괴 및 용해로 인해 오염될 것이기 때문에 세포의 파괴 및 용해를 피해야 한다.

[0020] 나아가, 경제적 이유로, 수득된 글루칸 수용액의 농도가 가능한 높아야 한다. 즉, 첫째 가능한 작은 발효 플랜트(plant)를 이용할 수 있어야 하고 둘째 글루칸 수용액을 생산 장소로부터 이용 장소로 수송하기 위해 가능한 적은 수송 노력을 보강해야 한다. 경제적 이유로, 3 g/l 이상의 글루칸 농도가 달성되어야 한다. 이처럼 농도가 높은 글루칸 용액은 매우 높은 점도를 가질 뿐만 아니라 높은 구조적 점도도 갖는다. 이러한 용액은 여과하기 어렵다. 농도가 높을수록 여과 단계가 더 어려워진다.

발명의 내용

[0021] 본 발명의 목적은 삼차 광유 생산에서 이용되기에 충분한 질을 갖는 분쇄체 β -1,3-글루칸 용액의 경제적 제조 방법을 제공하는 것이다. 상기 용액은 높은 비점도 이외에 특히 가능한 낮은 함량의 세포 및 세포 단편을 가져야 한다. 여과액을 이용하는 경우, 1.2 μm 등방공극(isopore) 필터에 의해 2.5 미만의 여과성 특정화 값 MPFR이 달성되어야 한다.

[0022] 따라서, β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 주쇄 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합된 측쇄 기를 갖는 글루칸의 수용액을 제조하는 방법을 발견하였는데, 상기 방법은 상기 구조의 글루칸을 분비하는 진균 균주를 수성 배양 배지에서 발효시키는 단계, 및 글루칸 및 생체물질이 포함된 수성 발효액으로부터 그 생성된 글루칸의 수용액을 직교류 정밀여과에 의해 후속 분리하는 단계를 포함하고, 상기 직교류 정밀여과에 있어서는 지지체 재료로 된 하나 이상의 층 및 하나 이상의 분리 층을 포함하는 비대칭 필터 막이 사용되며, 상기 분리 층의 공극 크기가 1 μm 내지 10 μm 이고, 상기 지지체 재료의 공극 크기가 5 μm 내지 100 μm 이며, 단, 상기 분리 층의 공극 크기가 상기 지지체 재료의 공극 크기보다 1 μm 이상 더 크고, 직교류의 유속이 0.2 m/s 내지 20 m/s이며, 막투과 압력이 0.1 bar 내지 10 bar이다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1: 바람직한 여과 장치의 개략적 도면.

도 2: 실험 및 비교 실험을 위해 이용된 장치의 개략적 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본 발명에 관하여, 하기 용어들이 구체적으로 언급될 수 있다:

[0025] "글루칸"은 글루코스 유닛만으로 구성된 단일 다당류를 의미하는 것으로서 당업자에 의해 이해된다. 본 발명에 따른 방법에 의해, 특정 부류의 글루칸, 특히 β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 글루코스 유닛들로 구성된 주쇄, 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합되고 글루코스 유닛들을 포함하는 측쇄 기를 포함하는 글루칸이 제조된다. 바람직하게는, 상기 측쇄 기는 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 결합된 단일 글루코스 유닛으로 구성되고, 이때 통계학적 관점에서 상기 주쇄의 세 번째 유닛마다 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 결합된 추가 글루코스 유닛을 갖는다.

[0026] 글루칸을 분비하는 이러한 진균 균주는 당업자에게 공지되어 있다. 예로는 쉬조필름 콤문, 스크레로티움 볼프시이, 스크레로티움 글루카니쿰(*Sclerotium gluconicum*), 모닐리니아 프루티게나(*Monilinia fructigena*), 렌티눌라 에도데스(*Lentinula edodes*) 또는 보트리티스 시네라(*Botrytis cinera*)가 있다. 적합한 진균 균주는 예를 들면, 유럽 특허출원 공보 제271 907 A2호 및 유럽 특허출원 공보 제EP 504 673 A1호(각각의 경우 청구범위 제1

항)에서 더 언급되어 있다. 바람직하게는, 이용되는 진균 균주는 쉬조필름 콤포문 또는 스크레로티움 볼프시이, 특히 바람직하게는 글루칸을 분비하는 쉬조필름 콤포문이고, 이때 β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 글루코스 유닛을 포함하는 주쇄 상에서 통계학적 관점에서 상기 주쇄의 세 번째 유닛마다 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 결합된 추가 글루코스 유닛을 갖는다(즉, 상기 글루칸은 바람직하게는 소위 쉬조필란이다). 전형적인 쉬조필란의 중량 평균 분자량 M_w 는 약 5 내지 약 $25 \cdot 10^6$ g/mol이다.

- [0027] 제1 공정 단계에서, 진균을 적합한 수성 배양 배지에서 발효시킨다. 발효 과정에서, 진균은 수성 발효액에서 진술된 부류의 글루칸을 분비한다.
- [0028] 이러한 진균 균주의 발효 공정은 원칙적으로 예를 들면, 유럽 특허출원 공보 제271 907 A2호, 유럽 특허출원 공보 제504 673 A1호, 독일 특허출원 공보 제40 12 238 A1호, 국제 특허출원 공보 제WO 03/016545 A2호 및 문헌 [Udo Rau, "Biosynthese, Produktion und Eigenschaften von extrazellularen Pilz-Glucanen", Habilitationsschrift, Technical University of Brunswick, 1997](각각의 경우 적합한 배양 배지도 언급하고 있음)으로부터 당업자에게 공지되어 있다.
- [0029] 본 발명에 따르면, 바람직하게는 예를 들면, 교반기를 이용하여 통기 및 무브먼트(movement)를 수행하면서 15°C 내지 40°C, 바람직하게는 25°C 내지 30°C, 예를 들면, 약 27°C의 온도에서 예를 들면, 수성 배양 배지에서 진균을 배양할 수 있다.
- [0030] 본 발명에 따른 방법에서, 발효는 바람직하게는 제조될 글루칸의 농도가 여과될 발효액에서 3 g/l 이상이 되게 하는 방식으로 수행되어야 한다. 상기 상한은 원칙적으로 한정되지 않는다. 상기 상한은 각각의 경우 이용되는 발효 장치에 의해 용이하게 취급될 수 있는 점도에 의해 좌우된다.
- [0031] 마지막으로, 글루칸을 포함하는 수용액은 용해된 글루칸 및 생체물질(진균 세포 및 임의적으로 세포 성분)을 포함하는 발효액으로부터 직교류 정밀여과에 의해 분리되고, 생체물질의 농도가 여과 전보다 더 높은 수성 발효액이 잔류한다.
- [0032] 상기 방법의 한 실시양태에서, 발효는 발효 용기 내에서 수행되고, 발효 후 발효 탱크의 내용물은 비대칭 필터 막의 이용에 의해 본 발명에 따라 여과된다.
- [0033] 본 발명의 추가 실시양태에서, 발효는 하나 이상의 발효 용기를 포함하는 적절한 플랜트에서 수행된다. 발효액은 측류(side stream)를 통해 상기 플랜트로부터 연속적으로 또는 때때로 제거되고, 글루칸을 포함하는 수용액은 직교류 정밀여과에 의해 상기 발효액으로부터 분리된다. 생체물질의 농도가 여과 전보다 더 높은 잔류 수성 발효액은 적어도 부분적으로 상기 발효 용기로 재순환될 수 있다.
- [0034] 직교류 정밀여과 공정은 원칙적으로 당업자에게 공지되어 있고 예를 들면, 문헌[Melin, Rautenbach, Membranverfahren, Springer-Verlag, 3rd edition, 2007, page 309 to page 366]에 기재되어 있다. 여기서, "정밀여과"는 크기가 약 0.1 μ m 내지 약 10 μ m인 입자의 제거를 의미하는 것으로서 당업자에 의해 이해된다.
- [0035] 직교류 여과에서, 여과될 액체의 스트림은 예를 들면, 여과 물질로서 이용되는 막의 표면에 평행한 적합한 순환 펌프에 의해 인가된다. 따라서, 액체 스트림은 필터 막 상에서 연속적으로 유동하고, 이로써 막 표면 상의 퇴적물의 형성이 방지되거나 적어도 부분적으로 감소된다. 원칙적으로, 모든 유형의 펌프가 상기 펌프로서 적합하다. 그러나, 수송될 배지의 높은 점도로 인해, 특히 양성 치환 펌프, 매우 특히 편심 나사 펌프 및 회전 피스톤 펌프가 유용한 것으로 입증되었다.
- [0036] 본 발명에 따라, 비대칭 필터 막이 직교류 정밀여과를 위해 이용된다. 비대칭 필터 막은 공극 크기가 상이한 2개 이상의 상이한 층, 즉 하나 이상의 지지체 층 및 하나 이상의 분리 층으로 구성된다. 상기 지지체 층은 비교적 두껍고 비교적 큰 공극을 갖는다. 이것은 필터 막에 물리적 강도를 부여한다. 지지체 층의 공극보다 더 미세한 공극을 갖는 하나 이상의 분리 층은 상기 지지체 층에 도포된다. 예를 들면, 수은 다공률 측정법이 공극 크기의 측정을 위해 원칙적으로 공지된 방식으로 이용될 수 있다. 임의적으로, 상기 분리 층과 상기 지지체 층 사이에 하나 이상의 중간 층도 정렬되어 있을 수 있다.
- [0037] 비대칭 막은 예를 들면, 금속 막 또는 세라믹 막일 수 있다. 이용되는 비대칭 막은 바람직하게는 비대칭 세라믹 막이다. 비대칭 세라믹 막의 세부사항은 예를 들면, 문헌[Melin, Rautenbach, Membranverfahren, Springer-Verlag, 3rd edition, 2007, page 51 to page 52]에 기재되어 있다.
- [0038] 세라믹 또는 금속 막의 본체는 지지체 재료로부터 생성된다. 이들 막 본체의 적합한 형태는 당업자에게 공지되

어 있고 필터 장치의 디자인에 따라 당업자에 의해 선택된다. 이들은 예를 들면, 평면 막 또는 관형 막으로서 형성될 수 있다. 평면 막은 원반 유사 구조체이다. 관형 막은 하나의 채널(단일 채널 막) 또는 복수의 채널(다중채널 막)을 갖는 관형 구조체이다. 관형 막의 채널의 내부 직경은 일반적으로 1 mm 내지 25 mm, 특히 2 mm 내지 12.5 mm이다. 상기 채널은 원형일 필요가 없고, 불규칙적 형태, 예컨대, 원형 정점을 갖는 다각형도 가능하다. 관형 막의 길이는 일반적으로 0.1 m 내지 5 m, 바람직하게는 0.5 m 내지 2 m이다. 길이가 1 m 내지 1.2 m인 관형 막이 상업적으로 입수될 수 있다. 복수의 관형 막이 임의적으로 상이한 하우징(housings)(소위 막 모듈(modules)) 내에서 일렬로 정렬되거나 서로에 대해 평행하게 정렬되는 것도 가능하다.

- [0039] 세라믹 필터 막의 경우, 지지체 재료는 다공성 무기 물질, 예컨대, 알루미늄, 실리카, 탄화규소, 산화지르코늄, 산화티탄 또는 이들 물질들의 혼합물로 구성된다. 금속 막의 경우, 소결된 금속, 예컨대, 스테인레스 강, Hastelloy, Inconel 또는 티탄이 지지체 재료로서 이용된다. 물질 조합물, 예를 들면, 소결된 금속 지지체 층과 세라믹 분리 층의 물질 조합물도 가능하다. 단일 채널 막 또는 평면 막의 경우, 지지체 재료의 두께는 일반적으로 0.05 mm 내지 10 mm, 바람직하게는 1 mm 내지 5 mm이다.
- [0040] 다중채널 막의 이용이 특히 바람직하다. 다중채널 막의 경우, 지지체 재료는 전술된 채널이 내부로 안내되어 있는 주형, 예를 들면, 원형 또는 육각형 주형을 형성한다. 다중채널 막을 위한 이러한 주형의 외부 직경은 일반적으로 5 mm 내지 100 mm, 바람직하게는 10 mm 내지 50 mm이다.
- [0041] β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 주쇄 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합된 측쇄 기를 갖는 글루칸의 용액을 제조하는 본 발명에 따른 방법에서, 지지체 재료의 공극 크기는 5 μ m 내지 100 μ m, 바람직하게는 7 μ m 내지 100 μ m, 특히 바람직하게는 10 μ m 내지 60 μ m이다.
- [0042] 상기 값들은 각각의 경우 공극 크기 D90이다. 용어 "공극 크기 D90"은 당업자에게 공지되어 있다. 상기 용어는 지지체 재료의 공극 크기 분포 곡선으로부터 측정되고, "공극 크기 D90"은 물질의 공극 부피의 90%가 공극 크기 D90 이하의 공극 크기를 갖는 공극 크기이다. 물질의 공극 크기 분포는 예를 들면, 수은 다공률측정법 및/또는 기체 흡착 방법에 의해 측정될 수 있다. 이들 방법은 원칙적으로 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들면, 관련 표준 ISO 15901-1 EN, ISO 15901-2 EN 및 ISO 15901-3 EN에 기재되어 있다.
- [0043] 임의적으로, 하나 이상의 중간 층이 지지체 재료에 도포될 수 있다. 지지체 층 또는 임의적으로 존재하는 중간 층 다음에 분리 층이 존재한다. 분리 층의 평균 공극 크기는 1 μ m 내지 10 μ m, 바람직하게는 1 μ m 내지 6 μ m, 특히 바람직하게는 2 μ m 내지 5 μ m이다. 이 값들은 전술된 바와 같이 D90 공극 크기이다.
- [0044] 지지체 층 및 분리 층의 공극 크기는 각각의 경우 지지체 층의 공극 크기가 분리 층의 공극 크기보다 1 μ m 이상 더 크도록 당업자에 의해 선택된다. 바람직하게는, 지지체 층의 공극 크기는 분리 층의 공극 크기보다 5 μ m 이상, 특히 바람직하게는 10 μ m 이상, 예를 들면, 20 μ m 이상 더 크다.
- [0045] 분리 층 및 중간 층은 예를 들면, 알루미늄, 실리카, 탄화규소, 산화지르코늄, 산화티탄, 이들 물질들 또는 금속 합금들의 혼합물로 구성될 수 있다. 분리 층, 중간 층 및 지지체 재료가 동일한 물질로부터 생성될 필요는 없고, 종종 엄밀히 말하면 상이한 물질들의 조합물이 유리하다.
- [0046] 임의적으로 존재하는 중간 층의 두께는 1 μ m 내지 500 μ m이다. 분리 층의 평균 두께는 일반적으로 1 μ m 내지 50 μ m, 바람직하게는 5 μ m 내지 200 μ m이다. 중간 층의 공극 크기는 지지체 재료의 개별적으로 선택된 공극 크기와 분리 층의 공극 크기 사이에 있다.
- [0047] 본 발명에 따른 방법을 수행하기 위해, 비대칭 필터 막이 적합한 필터 장치 내에 설치된다. 적합한 필터 장치의 디자인은 원칙적으로 당업자에게 공지되어 있다. 분리 층이 지지체 재료와 보유액 공간 사이에 존재하는 경우가 유리하지만, 본 발명은 이로 한정되지 않는다.
- [0048] 바람직하게는, 관형 막이 본 발명에 따른 방법의 수행을 위해 이용될 수 있다. 관형 막의 경우, 보유액은 바람직하게는 채널 또는 채널들의 내부를 통과하고, 이에 따라 투과액은 지지체 재료의 벽을 통해 외부로 나와 투과액 공간 내로 들어간다. 보유액이 채널 또는 채널들의 외부에 존재하고 투과액이 채널 또는 채널들의 내부에서 수집되는 경우가 보다 덜 바람직하다.
- [0049] 관형 막은 소위 단일채널 부재로서 이용될 수 있다. 그러나, 단일채널 부재의 이용은 바람직하다. 이들 부재는 동일한 공간 요건, 보다 단순한 설치 및 이에 따른 실질적으로 보다 낮은 자본 비용과 함께 보다 큰 막 면적이 라는 이점을 갖는다. 그러나, 이들 막 부재의 경우, 투과액은 상기 막 부재로부터 나오기 위해 전체 지지체 본체를 침투해야 한다. 구조적 점도를 갖는 물질의 경우, 상기 점도는 낮은 유속에서 특히 높고, 이것은 글루칸

용액이 지지체 본체를 통과하는 것을 보다 더 어렵게 만든다. 따라서, 지지체 본체를 통한 투과액의 긴 경로 및 보다 복잡한 유동으로 인해 다중채널 부재는 쉬조필관 용액의 여과에 적합하지 않을 수 있다고 추정되었다.

- [0050] 그러나, 투과액의 높은 점도 및 구조적 점도 성질에도 불구하고, 다중채널 부재의 이용이 가능하고 높은 투과액 유동이 낮은 막투과 압력에서조차도 달성될 수 있다는 것을 발견하였다.
- [0051] 본 발명에 따라, 직교류의 유속은 0.2 m/s 내지 20 m/s, 바람직하게는 0.5 m/s 내지 7 m/s, 특히 바람직하게는 1 m/s 내지 6 m/s이어야 한다. 너무 낮은 유속은 막이 신속히 폐쇄되기 때문에 불리하고, 너무 높은 유속은 순환될 보유액의 많은 양으로 인해 불필요하게 높은 비용을 발생시킨다.
- [0052] 막투과 압력은 일반적으로 0.1 bar 내지 10 bar, 바람직하게는 0.5 bar 내지 6 bar, 매우 특히 1 bar 내지 4 bar이다.
- [0053] 직교류 정밀여과가 수행되는 온도는 중요하지 않고 일반적으로 5℃ 내지 150℃, 바람직하게는 10℃ 내지 80℃, 특히 바람직하게는 15℃ 내지 40℃이다. 분리될 세포가 사멸되지 않아야 하는 경우, 즉 예를 들면, 생체물질의 재순환을 이용하는 방법에서 온도는 15℃ 내지 40℃이어야 한다.
- [0054] 본 발명에 따라 이용될 필터 유닛의 바람직한 실시양태는 도 1에 도시되어 있다. 바람직한 장치는 순환 펌프 P, 필터 모듈 F 및 열 교환기 W를 포함한다. 필터 장치 F 내에 정렬된 막의 표면 상에서의 전술된 액체 직교류가 펌프 P에 의해 생성된다. 플랜트 내용물은 열 교환기 W에 의해 온도 조절될 수 있다.
- [0055] 필터 장치 F는 막이 격벽으로서 도입되어 있는 하우스िंग으로 구성된다. 상기 하우스잉은 상기 막에 의해 소위 보유액 공간과 투과액 공간으로 나누어진다. 공급물로서 지칭되는, 펌프 P에 도달하는 액체는 생체물질로 오염되어 있는 글루칸 용액이다. 공급물은 하나 이상의 공급물을 통해 보유액 공간으로 들어간다. 농축물로 지칭되는 액체 스트림은 하나 이상의 배출물을 통해 보유액 공간으로부터 다시 나온다. 보유액 공간 내의 압력은 투과액 공간 내의 압력보다 더 높다. 압력 차이는 막투과 압력으로 지칭된다. 공급물 스트림의 일부는 막을 투과하여 투과액 공간에서 수집된다. 투과액으로 지칭되는, 투과하는 이 액체 일부는 생체물질로부터 분리된 글루칸 용액이다.
- [0056] 본 발명의 추가 실시양태에서, 회전하는 내부 또는 회전하는 막 자체를 이용함으로써 막 표면 상에서 고전단력을 수득할 수 있다. 이 경우, 용어 "동적 직교류 여과"도 이용된다. 동적 직교류 정밀여과를 수행하기 위한 장치는 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들면, 부스-에스엠에스-캔슬러 게엠베하(Buss-SMS-Cancler GmbH)(듀란 소재)로부터 상표명 다이내멤(DynaMem) 모듈 하에 획득될 수 있다. 이러한 동적 직교류 정밀여과 장치를 이용하는 경우, 기재된 비대칭 세라믹 막은 원반 형태로 이용된다.
- [0057] 막 여과 시설의 작동 시간은 임의적으로 투과액을 이용한 정기적 역세정에 의해 연장될 수 있다. 이 목적을 위해, 보유액 공간 내의 압력보다 더 높은 압력을 투과액 공간 내에 정기적 간격으로 인가하고, 일정량의 투과액을 지정된 시간 동안 막을 통해 보유액 공간 내로 역류시킨다. 이 역세정은 예를 들면, 투과액 공간 내로의 질소의 주입에 의해, 역세정 펌프에 의해, 또는 피스톤 시스템, 예를 들면, 팔(Pa11)(베드 크레우즈나흐 소재)에 의해 상표명 "백펄스 데콜마테우르 비에프(BACKPULSE DECOLMATEUR BF) 100" 하에 시판되는 피스톤 시스템의 이용에 의해 수행될 수 있다. 역세정은 1분 내지 5시간의 간격으로, 바람직하게는 2분 내지 60분의 간격으로 수행되어야 하지만, 이것은 본 발명을 이 시간 주기로 한정하기 위한 것이 아니다. 역세정된 투과액의 양은 바람직하게는 m² 막 면적 당 0.05 l 내지 5 l의 범위, 바람직하게는 m² 막 면적 당 0.1 l 내지 2 l의 범위 내에 있다.
- [0058] 이용된 발효 배출물의 질에 따라 이용된 필터 막을 적절한 시간에서 세정하는 것이 필요할 수 있다. 필터 막의 세정은 상기 막을 20℃ 내지 100℃, 특히 40℃ 내지 80℃의 온도에서 적합한 세정 용액으로 처리함으로써 수행될 수 있다. 산(무기산, 예컨대, 인산, 질산, 또는 유기산, 예컨대, 포름산)이 세정 용액으로서 이용될 수 있다. 산 농도는 일반적으로 1 중량% 내지 10 중량%의 농도이다. 보다 우수한 세정 효과는 일반적으로 알칼리(예를 들면, 수산화나트륨 용액, 수산화칼륨 용액)의 이용에 의해 달성된다. 이용된 알칼리의 농도는 0.1 중량% 내지 20 중량%이다. 세정 효과는 산화 물질, 예컨대, 과산화수소, 차아염소산염, 특히 차아염소산나트륨, 또는 피아세트산의 첨가에 의해 실질적으로 개선될 수 있다. 산화 물질의 농도는 0.5 중량% 내지 10 중량%, 특히 1 중량% 내지 5 중량%이어야 한다. 특히 바람직하게는 과산화수소와 알칼리 또는 과산화수소와 차아염소산염의 혼합물을 이용하여 세정을 수행할 수 있다. 바람직하게는 막 여과 시설 내에 설치된 상태에서 -시설 작동정지 동안- 제자리 세정 시스템(CIP 시스템)을 이용하여 막의 세정을 수행한다. m² 막 면적 당 50 kg의 투과액 내지 m² 막 면적 당 5,000 kg의 투과액, 바람직하게는 m² 막 면적 당 50 kg의 투과액 내지 m² 막 면적 당 1,000 kg의 투

과액을 수득하자마자 필터 막의 세정을 수행하는 것이 유용하다는 것이 입증되었다.

[0059] 본 발명에 따른 방법에 의해, β -1,3-글리코시드 결합에 의해 결합된 주쇄 및 β -1,6-글리코시드 결합에 의해 상기 주쇄에 결합된 측쇄 기를 갖는, 삼차 광유 생산에 적합한 글루칸의 용액이 간단한 방식으로 제조될 수 있다.

[0060] 본 발명에 따라 이용된 비대칭 막은 경제적이다. 높은 투과액 유량으로 인해, 막 플랜트는 낮은 자본 비용을 요구하고 낮은 에너지 소비를 갖는다. 비대칭 막의 이용 수명은 길다.

[0061] 생성물의 우수한 질은 낮은 여과 비(MPFR 값)에 의해 표시되는 우수한 여과 성질로부터 명백하다. 생성물의 MPFR 값은 1.001 내지 2.5, 특히 1.01 내지 2.0이다.

[0062] 발효 배출물에 존재하는 쉬조필란의 양을 기준으로 한 쉬조필란의 수율, 즉 발효 배출물로부터 회수될 수 있는 쉬조필란의 양은 25% 내지 97%, 특히 30% 내지 95%, 매우 특히 바람직하게는 50% 내지 93%이다.

[0063] 글루칸의 수율은 임의적으로 당업자에게 공지되어 있는 물을 이용한 정용여과 공정에 의해 증가될 수 있다.

[0064] 하기 실시예는 본 발명을 보다 상세히 설명하기 위한 것이다.

[0065] 여과 비(MPFR 값)의 측정

[0066] 측정 원리:

[0067] 밀리포어 여과 비(MPFR 값)의 측정에서, 지정된 필터를 통과하는 여과액의 양은 시간의 함수로서 측정된다. MPFR 값은 하기 수학적 I에 따라 측정된다:

[0068] [수학적 I]

[0069]
$$MPFR = (t_{190g} - t_{170g}) / (t_{70g} - t_{50g})$$

[0070] 상기 식에서, 변수 및 방정식은 하기 의미를 갖는다:

[0071] t_{190g} = 여과액의 190 g이 수득되는 시간,

[0072] t_{170g} = 여과액의 170 g이 수득되는 시간,

[0073] t_{70g} = 여과액의 70 g이 수득되는 시간,

[0074] t_{50g} = 여과액의 50 g이 수득되는 시간.

[0075] 따라서, 각각의 경우, 20 g의 여과액이 각각의 경우 통과하여 유동하는 데에 소요되는 시간이 즉, 여과 공정의 초기 시점 및 후기 시점에서 측정되고, 상기 2개의 시간으로부터 비율이 계산된다. MPFR 값이 클수록, 여과 공정의 지속시간이 증가하면서 여과 속도가 더 크게 늦추어진다. 이것은 예를 들면, 겔 또는 입자에 의한 필터의 증가하는 폐쇄를 표시한다.

[0076] MPFR 값은 하기 방법에 의해 측정된다:

[0077] 1. 장치

[0078] a) 사르토리우스(Sartorius) 압력 여과 장치 16249; 필터 직경 47 mm; 200 ml의 분해 원통($\Phi_i = 41$ mm)을 가짐.

[0079] b) 아이소포어(Isopore) 막 1.2 μ m; Φ 47 mm; 번호 RTTP04700

[0080] c) 저울

[0081] 2. 글루칸 용액의 제조

[0082] 먼저, 실험으로부터 수득된 글루칸 용액과 초순수 물의 혼합물 50 g을 글루칸의 농도가 1.75 g/l가 되게 하는 비율로 제조한다. 상기 혼합물을 10분 동안 교반하고 균질도에 대해 가시적으로 조사한다. 상기 혼합물이 여전히 불균질한 경우, 상기 혼합물이 균질할 때까지 추가 교반을 수행한다. 그 다음, 200 g의 초순수 물을 이용하여 상기 혼합물의 총량이 250 g이 되게 한다. 그 다음, 균질화를 위해 교반을 1시간 이상 동안 수행한 후, 0.1 M NaOH를 이용하여 pH를 6.0으로 조절하고, 이어서 교반을 15분 동안 다시 수행한다. 6.0의 pH를 다시

확인한다. 상기 혼합물 중의 글루칸의 최종 농도는 0.35 g/ℓ이다.

- [0083] 3. 여과 시험의 수행
- [0084] 여과 시험을 1.0 bar의 압력(압축된 공기 또는 N₂) 및 실온(T = 25℃)에서 수행한다.
- [0085] - 조질(coarse) 지지체 격자를 체판(sieve tray) 상에 배치한다.
- [0086] - 미세한 지지체 격자를 상기 체판 상에 배치한다.
- [0087] - 막 필터를 상부에 배치한다.
- [0088] - 밀봉재(seal)(O-링)를 삽입한다.
- [0089] - 체판 및 유출구 마개를 나사로 원통에 고정시킨다.
- [0090] - 유출구 마개를 폐쇄한다.
- [0091] - 220 g(약 220 ml)의 용액을 도입한다.
- [0092] - 상부 덮개를 나사로 원통에 고정시킨다.
- [0093] - 유입구 공기 관을 최외곽으로 고정시킨다.
- [0094] - 압력을 조사하고 1.0 bar로 조절한다.
- [0095] - 여과 장치 하의 저울 상에 비이커를 배치한다. 타르(tare)를 누른다.
- [0096] - 유출구 마개를 개방한다.
- [0097] - 여과액이 더 이상 나오지 않을 때 시험을 중단한다.
- [0098] 저울을 이용하여 여과액의 양을 시간의 함수로서 측정한다. 각각의 경우 표시된 질량은 가시적으로 판독될 수 있으나 물론 자동적으로도 판독될 수 있고 평가될 수 있다.
- [0099] 보유율:
- [0100] 보유율 R은 막의 분리 거동을 특징규명하는 데에 이용된다(상기 문헌(Melin, Rautenbach) 제6면 참조).
- [0101] $R = 1 - \frac{\text{일정 시점에서 (투과액 중의 글루칸의 농도)}}{\text{이 시점에서 보유액 중의 글루칸의 농도}}$ 로 나눈 값.
- [0102] 글루칸이 투과액으로서 수득되기 때문에, 보유율은 가능한 낮아야 한다. 정밀여과의 경우, 보유율은 일반적으로 0% 이상이다. 보유율이 시간의 경과에 따라 변할 수 있기 때문에, 시간에 따른 평균 보유율은 특징으로서 명시된다.
- [0103] 본 발명에 따라 이용되는 여과 막을 이용하는 경우, 60% 미만, 유리한 경우 심지어 30% 미만의 평균 보유율이 수득된다. 이것은 글루칸이 발효액으로부터 실질적으로 회수될 수 있다는 것을 의미한다.
- [0104] 농축 계수(concentration factor):
- [0105] 발효액의 농축에서, 농축 계수 MK는 중요한 양이다. 이것은 시점 0에서 이용된 발효액의 질량을 글루칸 단리의 말기에서의 상기 발효액의 질량으로 나눔으로써 수득된 비율로서 정의된다. 농축 계수는 가능한 커야 한다.
- [0106] 본 발명에 따른 방법을 이용하는 경우, 15 이하, 유리한 경우 심지어 30 이하의 농축 계수가 달성될 수 있다.
- [0107] 비교예
- [0108] 대칭 여과 막을 이용한 여과
- [0109] 이용되는 직교류 여과 장치는 도 2에 도시되어 있다. 상기 장치는 부피가 120 ℓ인 교반 이중 재킷 수용기 B1, 편심 나사 펌프 P1, 관 다발 열 교환기 W1, 압력 경감 밸브 V1 및 2개의 필터 모듈 F1 및 F2로 구성되었다. 각각의 경우 200 ml의 투과액을 이용하여 각각의 경우 300 s의 간격으로 3-방향 밸브 V3 및 V4를 통해 상기 필터 모듈 F1 및 F2를 투과액으로 역세정하였고, 질소의 압력은 7 bar이었다. 용기 B1의 이중 재킷 및 열 교환기 W1을 통해 직교류 여과 시설의 내용물을 24℃까지 냉각시켰다.
- [0110] 필터 모듈 F1 및 F2에서, 대칭 관형 막, 즉 세라믹 ATZ(알루미나/티타니아/지르코늄)를 포함하는 5-채널 부재(TAMI 제품)를 이용하였다. 상기 막의 공극 크기 D90은 3.5 μm이었다. 상기 막은 대칭 구조를 가졌고 분리 층

또는 중간 층을 보유하지 않았다. 상기 막 관의 길이는 1 m이었고, 외부 직경은 20 mm이었다. 모듈 부재의 막 면적은 0.11 m²이었다. 채널의 수력학적 직경은 6 mm이었다.

[0111] 쉬조필름 콤포트를 실험에 이용하였다. 즉, 문헌[Udo Rau, Biopolymers, editor A. Steinbuechel, WILEY-VCH Publishers, Volume 6, pages 63 to 79]에 기재된 쉬조필란을 회분식 발효에서 제조하였다. 발효 시간은 96시간이었다. 99.6 kg의 이 발효액(= 공급물)을 용기 B1 내로 도입하고(도 2) 펌프 P1을 이용하여 4 bar의 압력에서 7 m³/h의 순환 속도로 45분 동안 순환시켰다. 상기 용기의 내용물을 분석하고 ℓ 당 9.8 g의 쉬조필란 함량을 측정하였다.

[0112] 그 다음, 순환 속도를 5.1 m³/h로 설정하고, 1.1 bar의 막투과 압력을 인가하였다. 막투과 유속은 5 m/s이었다. 상기 필터 모듈로부터 나오는 투과액을 수집하고 중량을 측정하였다. 실험의 처음 10분 동안, 0.75 kg의 투과액을 수득하였다. 이것은 20.4 kg/h/m²의 투과액 유량에 상응한다. 막투과 압력은 2.9 bar이었다. 여과를 16시간 동안 수행하였고, 이 시간 내에 6.18 kg의 투과액을 수득하였다. 마지막 시간 이내에 5.4 g의 투과액만을 수득할 수 있었는데, 이것은 막이 사실상 완전히 폐쇄되었기 때문이다.

[0113] 수집된 투과액을 분석하였고, ℓ 당 6.7 g의 글루칸 함량을 발견하였다. 따라서, 수율은 단지 4%이었다. 투과액의 MPFR 값은 2.8이었고, 실험 동안 글루칸의 평균 보유율은 32%이었다. 농축 계수는 단지 1.07이었다.

[0114] **발명 실시예 1**

[0115] 비대칭 여과 막을 이용한 여과

[0116] 실시예 1에 기재된 직교류 여과 장치를 다시 한 번 이용하였다. 각각의 경우 200 ml의 투과액을 이용하여 각각의 경우 120 s의 간격으로 3-방향 밸브 V3 및 V4를 통해 필터 모듈 F1 및 F2를 투과액으로 역세정하였고, 질소의 압력은 4 bar이었다. 용기 B1의 이중 재킷 및 열 교환기 W1을 이용하여 직교류 여과 시설의 내용물을 22°C까지 냉각시켰다.

[0117] SIC를 포함하는 비대칭 관형 막, 즉 37-채널 부재(모델 "크라이스타(CRYSTAR), 타입 FT 3000", 세인트 고바인(St. Gobain) 제품)을 필터 모듈 F1 및 F2에서 이용하였다. 상기 막의 공극 크기 D90은 3.0 μm이었다. 지지체 재료의 공극 크기 D90은 30 μm이었다. 막 관의 길이는 1 m이었고, 외부 직경은 32 mm이었다. 모듈 부재의 막 면적은 0.42 m²이었다. 채널의 수력학적 직경은 3.4 mm이었다.

[0118] 실시예 1에 기재된 발효 배출물을 실험에 이용하였다. 115 kg의 이 발효액(= 공급물)을 용기 B1 내로 도입하고 펌프 P1을 이용하여 4 bar의 압력에서 7 m³/h의 순환 속도로 50분 동안 순환시켰다. 상기 용기의 내용물을 분석하고 ℓ 당 8.7 g의 쉬조필란 함량을 측정하였다.

[0119] 그 후, 순환 속도를 4.1 m³/h로 설정하고, 1.1 bar의 막투과 압력을 인가하였다. 막투과 유속은 1.7 m/s이었다. 필터 모듈로부터 나오는 투과액을 수집하여 중량을 측정하였다. 투과액 회수의 개시 후 50분에서 25 kg의 발효액을 용기 B1에 첨가하였다. 투과액 회수의 개시 후 16시간 20분에서 40 kg의 발효액을 용기 B1에 첨가하고, 순환 속도를 6.5 m³/h로 설정하였다. 이 시점까지 77 kg의 투과액을 수득하였다. 이것은 5.6 kg/m²/h의 평균 투과액 유량에 상응한다. 실험의 개시로부터 20시간 후, 추가 55 kg의 발효액을 용기 B1에 첨가하였다. 실험의 개시 후 22.5시간에서, 109 kg의 투과액을 투과액 용기 내에서 수집하였다. 투과액을 분석하였다.

[0120] 이 제1 여과 단계에서 투과액의 MPFR 값은 1.3이었다. 쉬조필란의 함량은 ℓ 당 6.9 g(이 시점까지 평균 보유율 26%)이었고, 7/s에서의 점도는 1380 mPa·s이었다.

[0121] 투과액을 위한 수집 용기를 교체하고, 추가 20 kg의 발효액을 용기 B1에 첨가하고, 여과를 추가 19.5시간 동안 수행하였다. 이 시간 동안 추가 85 kg의 투과액을 수득하였다. 이것은 5.1 kg/h/m²의 평균 투과액 유량에 상응한다.

[0122] 제2 여과 단계 동안 수집된 투과액을 분석하였다. MPFR 값은 1.2이었고, 쉬조필란의 함량은 ℓ 당 7.8 g(전체 실험에 걸쳐 평균 보유율 29%)이었고, 7/s에서의 점도는 1560 mPa·s이었다.

[0123] 따라서, 상기 두 여과 단계에 걸쳐 수율은 64%이었다. 농축 계수는 4.2이었다.

[0124] **논의**

[0125] 비교예 및 실시예의 값들은 하기 표 1에 다시 기재되어 있다.

표 1

[0126]

	비교예	실시예 1	
		제1 단계	제2 단계
MPFR 값	2.8	1.3	1.2
보유율	32%	26%	29%
농축 계수	1.07	4.2	
수율	4%	64%	

[0127]

상기 실험은 본 발명에 따라 여과된 생성물이 MPFR 값의 측정 동안 1.2 μm 필터를 폐쇄시킬 수 있는 성분들을 실질적으로 거의 포함하지 않는다는 것을 보여준다. 본 발명에 따른 방법을 이용하여 발효액을 훨씬 더 높은 정도로 농축할 수 있다. 본 발명에 따른 방법에서 수율은 실질적으로 더 높고, 나아가 비대칭 필터 막을 이용하는 본 발명에 따른 실시예에서의 보유율은 대칭 필터 막을 이용하는 비교예에서의 보유율보다 실질적으로 더 낫다.

[0128]

발명 실시예 2

[0129]

비대칭 필터 막을 이용한 여과

[0130]

실시예 1에 기재된 직교류 여과 장치를 다시 한 번 이용하였다. 그러나, 투과액 역세정을 위해 2개의 "백펠스 테콜마테우르 비에프 100" 피스톤 시스템(도 3 참조, 피스톤 B3 및 B4)을 상기 장치에 장착하였다. 각각의 경우 100 ml의 투과액을 이용하여 각각의 경우 900 s의 간격으로 볼(ball) 밸브 V3 및 V4를 통해 필터 모듈 F1 및 F2를 투과액으로 역세정하였고, 질소의 압력은 10 bar이었다.

[0131]

용기 B1를 둘러싸는 이중 재킷 및 열 교환기 W1을 이용하여 직교류 여과 유닛의 내용물을 29°C 내지 30°C까지 온도 조절하였다.

[0132]

알루미늄을 포함하는 비대칭 관형 막, 즉 19-채널 부재(모델 "멤브랄록스(MEMBRALOX), 타입 EP 1940", 폴(Pa11) 제품)를 필터 모듈 F1 및 F2에서 이용하였다. 상기 막의 공극 크기 D90은 5.0 μm이었다. 지지체 재료의 공극 크기 D90은 12 μm이었다. 막 관의 길이는 1020 mm이었다. 막 관은 둥근 모서리를 갖는 육각형의 형태를 가졌고, 2개의 대향하는 모서리 사이의 거리는 31 mm이었고, 2개의 대향하는 가장자리 사이의 거리는 28 mm이었다. 모듈 부재의 막 면적은 0.24 m²이었다. 채널의 직경은 4 mm이었다.

[0133]

비교예에서 기재된 바와 같이 제조되고 ℓ 당 8.3 g의 슈조필란을 함유하는 발효 배출물을 이용하여 실험을 수행하였다. 실험의 개시 시점에서 100 kg의 이 발효액(= 공급물)을 용기 B1 내로 도입하고, 펌프 P1의 순환 속도를 2.8 m³/h로 설정하고, 막투과 압력을 0.9 bar로 설정하였다. 막투과 유속은 1.6 m/s이었다. 필터 모듈로부터 나오는 투과액을 수집하여 중량을 측정하였다. 투과액 회수의 개시 후 20분에서 41 kg의 발효액을 용기 B1에 첨가하였다. 투과액 회수의 개시 후 10시간 35분에서 막투과 압력은 1.8 bar로 상승하였다. 투과액 회수를 중단하였다. 이 시점까지 100.6 kg의 투과액을 수득하였다. 이것은 19.8 kg/m³/h의 평균 투과액 유량에 상응한다. 투과액을 분석하였다. 이 제1 여과 단계에서 투과액의 MPFR 값은 1.7이었다. 슈조필란의 함량은 ℓ 당 6.3 g이었다.

[0134]

투과액을 위한 수집 용기를 교체하고, 추가 107 kg의 발효액을 용기 B1에 첨가하고, 막투과 압력을 1.2 bar로 설정하였다. 이 제2 여과 단계의 개시로부터 7시간 55분 후, 24.3 kg의 투과액을 회수하였다. 이것은 6.4 kg/m³/h의 평균 투과액 유량에 상응한다. 이 제1 여과 단계에서 투과액의 분석은 1.6의 MPFR 값 및 ℓ 당 7.4 g의 슈조필란 함량을 제공하였다.

[0135]

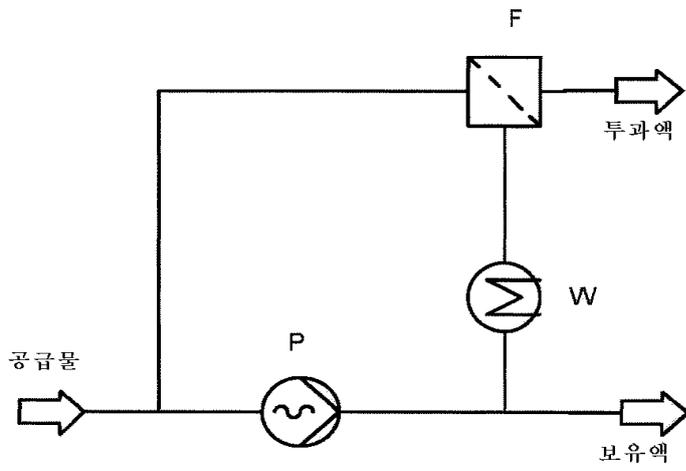
투과액을 위한 수집 용기를 교체하고, 여과를 추가 15시간 동안 수행하였다. 이 시간 내에 추가 47.2 kg의 투과액을 수득하였고, 막투과 압력은 1.5 bar까지 상승하였다. 평균 투과액 유량은 6.6 kg/h/m²이었다. 제3 여과 단계 동안 수집된 투과액을 분석하였다. MPFR 값은 2.2이었고, 슈조필란의 함량은 ℓ 당 7.7 g이었다.

[0136]

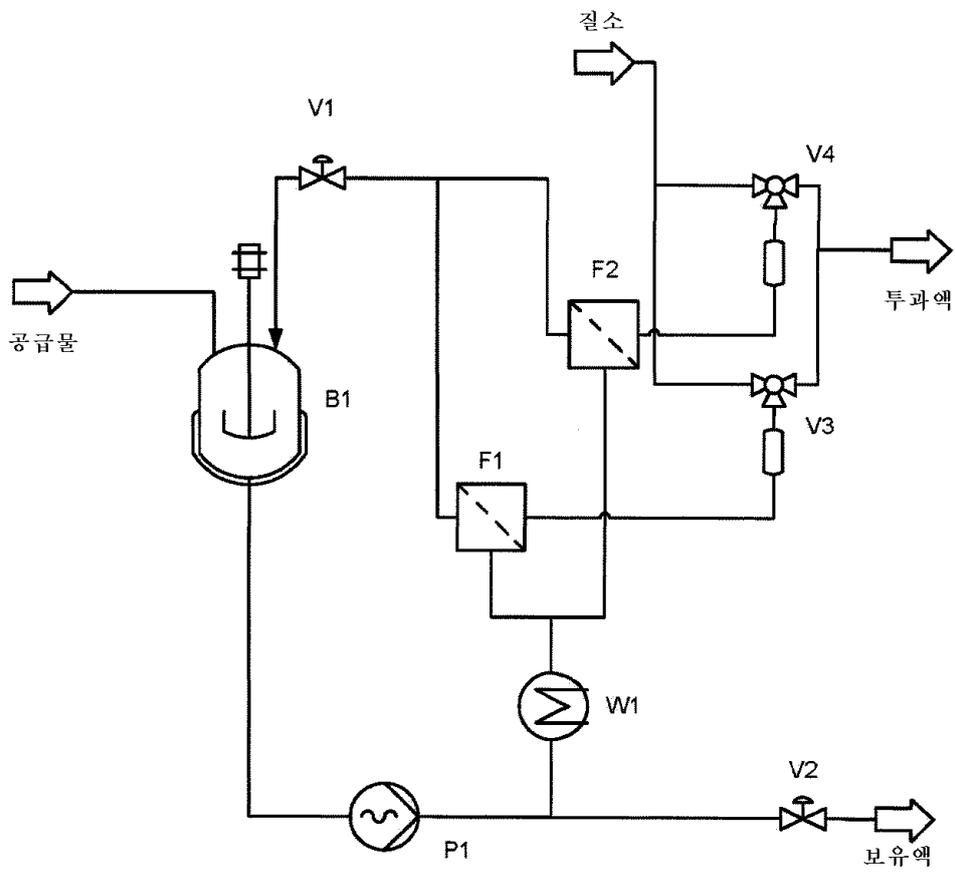
3개의 여과 단계에 걸쳐 글루칸의 수율은 57%이었고, 농축 계수는 3.3이었고, 보유율은 28%이었다.

도면

도면1



도면2



도면3

