

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
2. Mai 2008 (02.05.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/049385 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

A23J 1/14 (2006.01) A23K 1/16 (2006.01)
A23L 1/035 (2006.01) A61K 8/64 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01) A61K 47/42 (2006.01)
A23L 1/314 (2006.01) C09H 3/00 (2006.01)

(74) Anwalt: NEIDL-STIPPLER, Cornelia, E.; Kanzlei
Neidl-Stippler, Rauchstrasse 2, 81679 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2007/001724

(22) Internationales Anmeldedatum:
24. September 2007 (24.09.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2006 050 619.7
26. Oktober 2006 (26.10.2006) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): EMSLAND-STÄRKE GMBH [DE/DE]; Emsland-
strasse 58, 49824 Emlichheim (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LOTZ, Martin
[DE/DE]; Botterdiek 19, 49824 Emlichheim (DE).
EGGENGOOR, Gerold [DE/DE]; Echtelerstr. 1, 49849
Wilsum (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,
TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- mit geänderten Ansprüchen

(54) Title: PROCESS FOR OBTAINING LEGUMINOUS PROTEIN FRACTIONS OF MODERATE MOLECULAR WEIGHT,
LEGUMINOUS PROTEIN FRACTIONS AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM ERHALT VON LEGUMINOSENPROTEINFRAKTIONEN MITTLEREN MOLEKU-
LARGEWICHTS, LEGUMINOSENPROTEINFRAKTION UND VERWENDUNG DERSELBEN

(57) Abstract: The invention relates to a process for producing coagulated leguminous protein fractions of MW > 14, comprising:
initial charging of fruit juice; coagulation of the leguminous protein; removal of a leguminous protein fraction whose majority has an
MW of from > 14 kD to approx. 600 kD; optionally washing the coagulated leguminous protein fraction thus obtained; and optionally
drying the leguminous protein fraction, and to the use of the leguminous protein fraction as a food, food additive, medicament
additive, animal feed, in cosmetics, as industrial protein, as an adhesive.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von koagulierten Leguminosenproteinfraktionen ein-
nes MG > 14, mit: Vorlegen von Fruchtsaft; Koagulation des Leguminosenproteins; Abtrennen einer Leguminosenproteinfraktion,
deren Hauptmenge ein MG von größer 14 kD bis ca. 600 kD besitzt; ggf. Waschen der so erhaltenen koagulierten Leguminosenpro-
teinfraktion; und ggf. Trocknen der Leguminosenproteinfraktion sowie Verwendung der Leguminosenproteinfraktion als Lebens-
mittel, Nahrungsmittelzusatz, Arzneimittelzusatz, Tierfutter, in der Kosmetik, als technisches Eiweiß, als Kleber.



WO 2008/049385 A1

Verfahren zum Erhalt von Leguminosenproteinfraktionen mittleren Molekulargewichts.
Leguminosenproteinfraktion und Verwendung derselben

Die Erfindung betrifft ein Verfahren nach dem Oberbegriff des Patentanspruches 1 Leguminosenproteinfraktionen nach dem Oberbegriff des Patentanspruches 10 und deren Verwendung nach Anspruch 14. Sie bezieht sich also auf die Gewinnung von pflanzlichen Proteinen, die pflanzlichen Proteine selbst sowie die Verwendung dieser Proteine.

Proteine sind lebenswichtige chemische Verbindungen für die gesamte lebende Welt, meist mit biochemischer Funktion als Enzyme, aber auch als Speicherstoffe (Speicherproteine), sozusagen als Rohstoffreservoir für lebenswichtige Vorgänge, v.a. bei Wachstum bzw. Vermehrung. Proteine sind durch ihre Molekülgröße, ihre Zusammensetzung sowie ihre Sekundär- und Tertiärstruktur gekennzeichnet. Von Proteinen oder Eiweiß spricht man dann, wenn der chemische Aufbau ausschließlich aus Aminosäuren besteht und die Kettenlänge ca. 30 Aminosäuren und mehr beträgt. Bei kürzeren Ketten spricht man im allgemeinen von Peptiden, ohne dass diese Abgrenzung genau definiert wäre. Sie ist eher willkürlich und für bestimmte Situationen nützlich. Proteine werden von einzelligen Lebewesen, z.B. Bakterien und Hefen, Pflanzen, aber auch von Tieren erzeugt. Für die menschliche und tierische Ernährung und Gesundheit sind sie unverzichtbar. Neben ihren chemischen, nutritiven und biochemischen Eigenschaften haben Proteine auch sogenannte funktionale Eigenschaften, von denen die Wasseraufnahmekapazität, Verdaulichkeit, Löslichkeit in Wasser, die Bildung und Stabilisierung von Schaum sowie die Emulsionsfähigkeit für ihre technische Anwendbarkeit herausragenden Merkmale sind, die auch durch die tertiäre und sekundäre Struktur bestimmt sind. Dadurch finden Eiweiße auch in der Technik breite Anwendung, u.a. als Kleber, Emulgatoren, Andickungsmittel. Die tertiäre Struktur wird durch Hitzeeinwirkung oder aber durch Einwirkung von Säuren oder Laugen schwerwiegend und häufig irreversibel gestört. Die Sekundärstruktur wird durch Spaltung der Proteine, wie sie durch Enzyme oder aber stark alkalische oder saure Medien erfolgt, zerstört. Es ist somit wesentlich, funktionale Eigenschaften der Proteine während der Isolation derselben aufrecht zu erhalten.

Stand der Technik ist, tierische sowohl als auch pflanzliche Proteine zu isolieren. Sie werden bereits vielfältig angewendet, z.B. in Lebensmitteln (Tofu), Futtermitteln, der Pharmazie und in technischen Bereichen (Eiweißkleber od. dgl.) Die Bedeutung der Proteine für Ernährung, Lebensmitteltechnologie, z.B. als Schaummittel, Emulgator, Strukturgeber bzw. Texturierer (z.B. Gelatine für Gummibärchen und Tortenguss), Tierfutter, Kosmetika und Arzneimittel ist einzigartig und kann durch keine andere Stoffgruppe ersetzt werden. Am einfachsten sind funktionelle Proteine, die gute Wasserlöslichkeit und Emulsionsfähigkeit aufweisen, aus Milch oder Eiern durch wenig belastende Prozesse (keine starken pH-Wert-Änderungen, keine hohe Erhitzung) erhältlich.

Problematisch ist, dass insbesondere tierische Proteine häufig allergische Reaktionen auslösen.

Die sehr häufig industriell eingesetzten Kuhmilchproteine sind bei vielen Verbrauchern, die eine Lactoseintoleranz oder eine Allergie gegen Kuhmilchproteine aufweisen, gefürchtet. Tierische Proteine haben noch dazu immer den Nachteil, dass sie Träger von Krankheiten (wie BSE, HIV oder aber Vogelgrippe) tragen oder pathogen sein können. Die Verwendung tierischer Proteine hat auch den Nachteil, dass diese in vielen Bevölkerungsgruppen aus ethischen Gründen nicht akzeptiert werden. Hautcremes auf Collagenbasis etwa sind aus diesem Grund im asiatischen und moslemischen Kulturkreis verpönt, führen aber auch in unseren Kulturen zu Allergien. Auch sind tierische Proteine in aller Regel teurer als pflanzliche Proteine, da die Nachhaltigkeit pflanzlicher Proteine wesentlich höher als bei tierischen Proteinen ist - sie sind preiswerter zu produzieren und außerdem für eine vegetarische oder andere Diät, wie bspw. eine purinarmer Diät oder Ernährung besonders geeignet. Dies macht es sinnvoll, pflanzliche Proteine näher zu untersuchen.

Pflanzenproteine, insbesondere die Leguminosenproteine, wie Erbsenproteine und Ackerbohnenprotein vermeiden viele der oben genannten Nachteile der tierischen Proteine. Viele sind wenig bis nicht allergen - d.h. z.B. nicht auf der Allergenliste der

EU geführt, als pflanzliches Protein in allen Kulturen akzeptiert und aufgrund der Kultur bestimmter Pflanzen, wie von Erbsen oder Bohnen, ist die Sicherstellung gentechnikfreier Produkte (non-GMO-Zertifikate) und von Bio-Produkten möglich.

Bei allen industriell verwendeten tierischen Proteinen wie etwa Milch- und Molkeproteine, Gelatine, Hühnereiweiß, Collagen usw. sind im technischen Einsatz im allgemeinen - d.h. in der Lebensmitteltechnologie, der Technik u. dgl. fast ausschließlich Milchproteine, v.a. Casein und seine Salze (z.B. als Etikettierleim für Flaschenetiketten), Hühnereiweiß als Volleiweiß oder Eiklar sowie Eigelb und aus Schlachtabfällen isolierte Proteine, wie Gelatine, Knochenleim und Collagen (z.B. in der Kosmetik oder als Kleber).

Pflanzliche Proteine sind bis heute nur aus wenigen Pflanzen in der täglichen Anwendung verbreitet. Gebräuchliche isolierte Leguminosenproteine stammen von Leguminosen, wie Soja, Erbsen, Lupinen, Linsen. In größerem Umfang sind es als Isolate nur Soja- und Weizenprotein, der sogenannte Gluten. Gluten ist ein problematisches Eiweiß, da viele Menschen unter einer Glutenallergie leiden (Zöliakie) und ein erheblicher Bedarf an glutenfreiem pflanzlichem Eiweiß besteht. Unfraktioniertes Sojaprotein wie auch viele andere Leguminosenproteine, das in großem Umfang als Austauschstoff für tierisches Eiweiß sowie als Tierfuttermittel weit verbreitet ist, ist nicht unumstritten, da es hormonaktive Substanzen enthält. Typisch für Leguminosen sind Genistein und Daidzein; Anti-thyroidisoflavone, welche die Schilddrüsenaktivität hemmen. Genistein ist 5,7,4'Trihydroisoflavon mit einem Molekulargewicht von 270,24 Dalton. Weiterhin enthält Soja Proteaseinhibitoren, Phytinsäure, Lectine und Sojatoxin.

Weitere isolierte Leguminosenproteine stammen aus Raps, Lupinen und Linsen. Die Qualität vieler kommerziell erhältlicher isolierter Leguminosenproteine, insbesondere der Erbsenproteine, ist nicht zufriedenstellend. Die Gründe hierfür sind verschieden. Bei Raps und dgl. ist es vor allem der Fettgehalt der Proteine, der zu Ranzigkeit der Eiweiße und der daraus hergestellten Produkte führt. Dies gilt auch für Futterproteine, da ranzig gewordenen pflanzliches Fett in das tierische Fleisch eingelagert wird und ihm den typischen ranzigen Geschmack gibt. Bei den z.Zt. er-

häftlichen pflanzlichen Proteinen ist auch der starke Eigengeschmack ein Problem, wie z.B. bei Sojaprotein, wodurch viele Anwendungen nicht möglich sind oder die Einsatzmenge limitiert ist, was ebenfalls oft nachteilig ist.

Für Nahrungsmittelzwecke ist zu beachten, dass die Leguminosenproteine nicht vollwertig sind, d.h. dass sie nicht alle Aminosäuren, insbesondere die 8 sog. essentiellen Aminosäuren, die der menschliche Körper nicht selbst herstellen kann und daher extern zugeführt bekommen muss, enthalten. Die Wertigkeit von Leguminosenproteinen ist geringer als die von tierischen Proteinen - aber dennoch gut.

Für die Herstellung von Leguminosenprotein aus Fruchtwasser, das durch Pressen der entsprechenden Pflanzenteile, insbesondere Früchte, oder durch Flüssig-Extraktion aus zerkleinerten Pflanzenteilen gewonnen wird, werden technisch prinzipiell zwei Verfahren eingesetzt:

- I. Wärmekoagulation der Proteine im Fruchtwasser unter Inaktivierung der Enzyme oder
- II. Ausfällung der Proteine aus dem Fruchtwasser bei saurem pH oder Kombination aus beidem.

2. Abtrennung des ausgefällten Proteins

Unter Pflanzenteilen werden im Zusammenhang mit der Erfindung die Samen (z.B. Bohnen, Erbsen, Linsen Soja, "Juju"Nüsse", Erdnüsse etc.) von Leguminosen verstanden.

Unter Fruchtwasser werden hier sowohl aus den Samen ausgepresste Säfte als auch durch Extraktion mit wässrigen Medien aus den Samen gewonnene Lösungen von Leguminosenproteinen verstanden, die dann durchzuführen ist, wenn das Pflanzenteil keinen ausreichenden Flüssigkeitsgehalt besitzt oder aber um verbliebenes Protein zu mobilisieren.

Bei der klassischen Hitzefällung der Proteine aus dem Fruchtwasser entsteht ein schwerlösliches Produkt unzureichender Funktionalität, das schlecht verdaulich ist, starken Nebengeschmack hat und noch dazu mit Schadstoffen behaftet ist. Bei höherer Temperatur wird das Protein übermäßig geschädigt und seine wertvollen Eigenschaften, die es für die Lebensmittelanwendung so nützlich machen werden zunehmend zerstört: neutraler Geschmack, helle Farbe, Löslichkeit, alle anderen Funktionalitäten ebenfalls, die Struktur wird verhornt und die Verdaulichkeit nimmt ab. Dies gilt insbesondere für das sog. Texturized Vegetable Protein (TVP), ein Sojaprotein, das als Ersatzstoff für Fleisch eingesetzt wird - aufgrund der starken Temperaturbelastung bei der Herstellung ist es schlecht verdaulich und hat einen extremen bohnenartigen Geschmack. Ein weiterer Nachteil der bislang bekannten Verfahren zur Isolation von Leguminosenproteinen ist, dass antinutritive Stoffe nicht entfernt werden. Dies geschieht durch gezielte Auswaschung mit viel Waschwasser bei z.T. nur wenig Trockensubstanz, da diese oft nur eine geringe Löslichkeit besitzen, oder aber man benutzt teure Lösungsmittel, die bspw. Isoflavone lösen (Alkohol) die wiedergewonnen und aufgearbeitet werden müssen. Beide Verfahren sind sehr aufwendig.

Die so hergestellten bekannten Leguminosenproteine weisen dazu geringe Funktionalität und auch aufgrund ihrer hohen Denaturierung schlechte physiologische Verwertbarkeit auf, sind also schlecht zu verdauen und eignen sich schlecht bis gar nicht als Milchproteinersatzstoffe. Ähnliches gilt für die Proteine anderer Pflanzen, wie Weizen, Raps, Soja etc., bei denen schädliche Nebenstoffe vorliegen.

Typische weitere Negativstoffe, die als Begleitstoffe in gefällten Leguminosenproteinen auftreten, sind bspw.: Trypsininhibitoren, Proteine, welche das Eiweißverdauungsenzym Trypsin und damit die Verdauung hemmen. Trypsininhibitor kann nur durch gezielte Deaktivierung unschädlich gemacht werden, hier durch die Hitzebehandlung von um 70 °C.

Ferner können u.a. auftreten: Phytinsäure (komplexiert Ca-Ionen), hindert Ca-Aufnahme, Lectin, und andere Enzymhemmer als ein Verdauungshemmer, Tannine/Gerbsäuren, hindern die Verdauung, die Eisenaufnahme und inaktivieren Ver-

dauungsenzyme; Proteaseinhibitoren, Polyphenole und spezielle Zucker, wie Leguminosenzucker, die bspw. zu Diarrhöe führen können. Ferner sind für Leguminosen hormonartige Substanzen typisch, meist Isoflavone. Die Abtrennung oder Unschädlichmachung derselben geschieht heute nur teilweise - bspw. durch Auswaschen der Proteine oder aufwendige und teure enzymatische Behandlung.

Viele Leguminosenproteine, die durch Hitzefällung einer Proteinlösung im alkalischen Milieu gewonnen werden, (wozu übrigens auch die ggf. notwendige Pasteurisierung zählt), sind noch dazu durch einen hohen Gehalt an Lysinoalanin gekennzeichnet, einem antinutritiven Kondensationsprodukt, dessen Gehalt grundsätzlich so gering wie nur möglich sein soll.

Es ist Aufgabe der Erfindung, technisch mit wenig Aufwand Leguminosenproteine besserer Funktionalität bereitzustellen, die Nachteile bekannter Leguminosenproteine vermeiden.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Patentanspruches 1 gelöst. Ferner bezieht sich die Erfindung auf Proteinfractionen mit den Merkmalen der Patentansprüche 10, 11 und 12 sowie die Verwendung der Proteinfraction nach Anspruch 16. Vorteilhafte Weiterbildungen ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Erfindungsgemäß wird also durch gezielte Fraktionierung des Proteins aus wässriger Lösung mit proteinschonenden, überraschend einfachen Verfahren eine Proteinfraction lebensmitteltauglicher Qualität mit Funktionalität erhalten. Wesentlich ist, dass die Fraktionierung als Trenntechnik für verschiedene Proteine eingesetzt wird. Die Fraktionierung durch gezielte Einstellung von pH-Wert und Temperatur ist ein effizientes und preiswertes Verfahren, was eine einfache überraschend gezielte Proteinfractionierung im technischen Großmaßstab ermöglicht. Sie ist auch durch stufenweise Membranfiltration oder stufenweise Fällung mit Lösungsmitteln oder fraktioniertes Aussalzen möglich, aber erheblich aufwendiger. Es ist häufig günstig, die mechanische Abtrennung mit Dekantern durchzuführen, die schnell große Mengen Material in Feststoffe und Überlauf kontinuierlich trennen können.

Als hochwertige Leguminosenproteine (viele essentielle Aminosäuren) eignen sich besonders Erbsenproteine, Ackerbohnenproteine, Linsenproteine.

Die erfindungsgemäßen Leguminosenproteinfraktionen eignen sich besonders als Lebensmittel, Nahrungsmittelzusatz, Arzneimittelzusatz, Tierfutter, in der Kosmetik, als technisches Eiweiß, als Kleber, da sie einerseits in ausreichender Menge vorliegt, andererseits eine ausreichende Funktionalität durch Löslichkeit in Wasser aufweist.

Eine gezielte Fraktionierung des Leguminosenproteins, wie es bspw. im Erbsenwasserextrakt vorliegt, erfolgt mit der Zielsetzung, preiswert aus dem Fruchtsaft zu isolieren. Erfindungsgemäß geht man so vor, dass von Verfahrensschritt zu Verfahrensschritt die Fällungsbedingungen verschärft werden, um so jeweils die Fraktion mit den Proteinen, die das nächst niedrigere Molekulargewicht besitzen, isolieren zu können. Man nutzt dabei das deutlich verschiedene Verhalten der Leguminosenproteinfraktionen abhängig von verschiedenen Kombinationen aus Temperatur und pH-Wert.

Das erfindungsgemäße Verfahren weist auf:

- Zerreiben der ganzen oder geschälten oder anders geteilten Frucht, um den in den Zellen eingeschlossenen Fruchtsaft freizusetzen, ggf. unter Zusatz von (wässrigem) Lösemittel;

- vollständiges oder teilweises Abtrennen des so freigesetzten Fruchtsaftes, der das gesamte Protein enthält, von den Feststoffen und
- Fraktioniertes Fällen von Protein.

Stufe 1

Der erste Schritt dient der Abtrennung großer Proteine; er trennt mechanisch eine Fraktion des Leguminosenproteins nach einer ersten Säurefällung, das "Sedimentprotein", ab. Dieses ist hochmolekular und ein reines Protein. Protein niedrigeren Molekulargewichts verbleibt im Überstand. Dadurch wird eine aufwendige Abtrennung von unerwünschten Schadstoffen durch Adsorption in dieser Fraktion, vermieden. Ein so isoliertes Erbsenprotein besitzt einen Proteingehalt von 90 % (N*6,25), ist hochmolekular und daher wenig löslich und funktionell..

Die Abtrennung dieser Proteine mit einem Molekulargewicht von > ca. 116 kD kann man bspw. einfach erreichen durch (die aufwendigen Verfahren, wie Membranfiltration, werden hier wegen des höheren Aufwandes als untergeordnet betrachten):

- einfaches fraktionierendes Zentrifugieren des reinen Fruchtsaftes, der von sich aus einen leicht sauren pH-Wert besitzt. Hierbei wird am wenigsten Protein abgetrennt, dafür aber "sortenrein"

oder

- Einstellen eines sauren pH-Wertes zwischen pH 2 und 7, bevorzugt zwischen 5 und 7 und Säurefällung der großen Proteine, wobei das Ausgefällte dann mechanisch, bspw. durch Zentrifugation, abgetrennt wird. Wichtig ist, dass nicht zuviel Ausfällung (was die Ausbeute erniedrigt), und nicht zu wenig (was die Proteinreinheit der anderen Fraktionen und andere Qualitätsparameter verschlechtert) auftritt.

Ein besonderer Vorteil dieser Verfahren ist die außerordentliche Einfachheit, dies auch bezüglich Maschinen, Materialien und Energieverbrauch.

Falls eine Proteinfraction mit Molekulargewicht > 116 kD abzutrennen, ist kann dies durch Einstellung eines zur Fällung geeigneten pH-Wertes und Temperatur und Kontrolle dieser Parameter erfolgen

Stufe 2

Hier wird eine Zielproteinfraktion mittleren Molekulargewichts bspw. durch Einstellen eines zur Fällung geeigneten pH-Wertes in Kombination mit einer Wärmefällung aus dem Überstand der Stufe 1 isoliert (selbstverständlich können auch aufwendigere Verfahren, wie die Membranfiltration, eingesetzt werden). Dazu wird ein pH-Wert bevorzugt nahe des isoelektrischen Punktes des Proteins gewählt, in Kombination mit Erhöhung der Temperatur über Raumtemperatur hinaus.

Dies entspricht wiederum den Bedingungen der Fällung aus dem Sauren bei erhöhter Temperatur – es ist bei einem pH von ca. 2 bis 6 und 50 - 85 °C zugänglich.

Stufe 1 und 2 können auch gemeinsam durchgeführt werden wodurch dann ein Gesamtprotein mit Molekulargewicht > etwa 14 kD erhalten wird.

Überraschenderweise kann durch die Varianten des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Unteransprüchen 2, 3 und, 4 die keine teuren oder komplizierten Verfahren oder Prozessstufen benötigt und sehr schnell ist, mit einer Kombination einfacher Verfahrensschritte das geforderte Ziel erreicht werden, insbesondere sind die notwendigen Apparaturen auch noch preiswert in der Anschaffung und im Betrieb.

Sehr vorteilhaft ist, dass keine chemischen Zusätze im Verfahren angewandt werden müssen, wie z.B. Enzyme, Desinfektionsmittel, Aufheller.

Überraschend ist auch hinsichtlich der Produktmerkmale bzw. -eigenschaften, dass durch die Fraktionierung nicht nur Proteine mit einem besonderen Molekulargewichtsbereich isoliert werden, sondern auch eine Fraktion, die alle geforderten Eigenschaften besitzt: hoch nutritiv, neutrale Farbe, (fast) kein Rohstoffgeschmack, geringe Lysinoalanin-Gehalte sowie technologische Funktionalitäten, wie Wasserbindung und Ölbindung (Emulgator). Dies ist besonders überraschend, da die zuerst

gefällte Proteinfraction bei Erbsen aufgrund des hohen Molekulargewicht fast wasserunlöslich ist. Die Bohnen- und Erbsenproteine der 2. Fraction sind sehr wohl löslich in Form einer Kurve mit einem breiten Minimum, von 15 bis 70 % Löslichkeit, abhängig vom pH-Wert.

Nachstehend wird die Erfindung nunmehr anhand von Ausführungsbeispielen, auf die sie keineswegs eingeschränkt ist, näher erläutert.

Die erfindungsgemäß hergestellte Leguminosenproteinfraction vermeidet Nachteile bekannter Leguminosenproteine (Farbe, Bitterkeit, Allergenität, antinutritive Produkte, Eigengeschmack, Funktionslosigkeit) durch Auswaschen. Es kann auch eine fraktionierte Fällung von 2 Proteinfractionen durchgeführt werden. Antinutritiv könnten einige Enzyme, sein. Diese Enzyme haben ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 2 kD bis 9 kD, so dass diese nicht in der hier beschriebenen Fraction in nennenswerten Mengen enthalten sind. Darüber hinaus bewirkt die Wärmebehandlung eine Denaturierung und Inaktivierung von Enzymen.

Schadstoffe: Als Schadstoffe kommen außer den "normalen" Umweltgiften wie Schwermetalle und Pestizide hormonaktive Substanzen, wie Isoflavone und Anti-Thyroid Isoflavone, sowie spezifische Toxine, vor. Deren Abtrennung erfolgt wie oben beschrieben. Ein allergenes Potential der erfindungsgemäßen Leguminosenproteinfractionen mit einem Molekulargewicht von 14 - 97 und 100 – 600 kD ist unbekannt und sie eignen sich daher auch für die Produktion spezieller Allergenfreier pflanzlicher Spezialnahrung und Kosmetika.

Messung der Emulgierkapazität:

25 g Protein werden in 100 g Wasser mit einem Ultraturrax suspendiert. Danach gibt man unter weiterem Dispergieren langsam und portionsweise Öl dazu (z.B. Sonnenblumenkernöl, Rapsöl, Olivenöl usw.) bis die Emulsion bricht. Man gibt die Ölbindungs- oder Emulsionskapazität im Verhältnis der 3 Stoffe an mit der maximalen Ölbindung. 1:4:6 bedeutet, dass eine Mischung aus 1 Teil Protein und 4 Teilen Wasser 6 Teile Öl binden können, d.h. nach Zugabe von mehr als 150 g Öl in o. g.

Suspension bricht die Testemulsion.

Wasserbindekapazitätsbestimmung:

5 g Protein werden in 95 g Wasser eingewogen und die Suspension 1 h gerührt. Danach wird zentrifugiert (20 min., 3.500 g), der Überstand vorsichtig abgegossen (u.U. den letzten Rest abpipettieren) und das nasse Protein ausgewogen.

$(\text{Nassgewicht} - \text{Trockengewicht}) / \text{Trockengewicht} = \text{Wasserbindekapazität}$

Erbsenprotein

Für Erbsen ist wegen des geringen Wassergehalts zunächst eine Quellung von geschälten oder ungeschälten Erbsen bei einem pH-Wert in der Größenordnung von pH 2 – 10 über einen ausreichend langen Zeitraum im Bereich von 10 min bis mehreren Stunden vorgesehen, wobei die Lösung anschließend gepresst oder zentrifugiert, der Feststoff abgetrennt und der flüssige Überstand zur Eiweißisolation verwendet wird.

Dabei gilt:

1. Stufe:

Einstellen von pH 4,0 - 7,0 in der Extraktlösung, dadurch Ausfällen einer Erbsenproteinfraction mit einem Molekulargewicht von ca. 100 - 600 kD bei Raumtemperatur und separieren derselben.

2. Stufe:

Einstellen des pH der Lösung auf 4,0 bis 6,0 und 50 - 85 °C (nahe isoelektrischer Punkt), der entstehende weiße Niederschlag (pH 4 – 6 zur Fällung) wird bei oben genannten Prozessbedingungen mit einer Dekanterzentrifuge mechanisch abgetrennt. Proteingehalt des Rohprodukts ist ca. 75 % in Trockensubstanz. Die Parameter gewährleisten auch mikrobiologische Reinheit des Produkts, es ist also keine zusätzliche Pasteurisierung notwendig. Keine hohe bis sehr hohe Temperatur und saures Milieu, daher wenig Lysinoalanin.

Reinigungsschritte:

Danach erfolgt die Reinigung des Proteins zu Isolatqualität, d.i. > 85 % Protein in Trockensubstanz. Prozessparameter: Leitungswasser, kalt (Raumtemperatur) oder heiß (bevorzugt 50 °C bis 80 °C), pH neutral oder angesäuert auf pH 4 bis 6.

Waschwassermenge dieselbe bis die doppelte Menge wie der Produktzulauf zur Dekanterzentrifuge. Beispielsweise kann die Ausführung in zwei Stufen erfolgen, d.h. durch zwei in Reihe geschaltete Dekanter, wobei vor jedem Dekanter die Hälfte des Waschwassers zugeführt wird oder im Gegenstrom, d.h. das gesamte Waschwasser wird vor dem 2. Dekanter zugeführt und im Oberlauf des 1. Dekanters aus dem Prozess ausgeschleust.

Es ist besonders darauf zu achten, dass bei höherer Temperatur das Protein übermäßig geschädigt und seine wertvollen Eigenschaften, die es für die Lebensmittelanwendung so nützlich machen, zunehmend zerstört werden: neutraler Geschmack, helle Farbe, Löslichkeit, alle anderen Funktionalitäten ebenfalls, die Struktur wird verhornt und die Verdaulichkeit nimmt ab. Übrig bleibt im Leguminosenfruchtwasser die Proteinfraction, die auch unter diesen verschärften Bedingungen löslich bleibt. Weniger scharfe Bedingungen verringern nur unnötig die Ausbeute.

Gemäß SDS-PAGE betragen die Molekulargewichte der verschiedenen Erbsenproteine in der hohen Fraktion ca. 100 – 600 kD und in der mittleren Fraktion ca. 14 – 97 kD, wobei das Maximum der Proteine bei 20 und verschmiert von 36,5 bis 97 kD liegt, die restlichen Banden sind vernachlässigbar.

Das Produkt der mittleren Fraktion wies folgende Eigenschaften auf:

max. 1% Stärke

max. 1% Zucker

max. 1% Rohfaser

Isoelektrischen Punkt von etwa 4,3

pH-Wert von 4 - 6

Emulgierkapazität von 1:4:10 - 23 (Messung der Emulgierkapazität s.o.)

Löslichkeit 15 - 70 % in Wasser bei Raumtemperatur und auch in heißem Wasser,

abhängig vom pH-Wert)

Wasserbindekazität: 1:4 bis 1:5 (Testverfahren: s.o.)

Die Aminosäurezusammensetzung der so erhaltenen Erbseneiweißfraktion mit einem Molekulargewicht zwischen 20 und 97 kD betrug:

Ala	3,7 - 4,2
Arg	7,1 - 7,3
Asp	10,1 - 10,2
<u>Cys</u>	0,9 - 1,0
Glu	14,2 - 14,7
Gly	3,5 - 3,9
His	2,0 - 2,2
<u>Ile</u>	4,1 - 4,6
<u>Leu</u>	7,7 - 8,1
<u>Met</u>	0,9 - 1,2
<u>Phe</u>	5,0 - 5,5
Pro	3,9 - 4,1
Ser	4,2 - 4,6
<u>Thr</u>	3,3 - 3,6
<u>Try</u>	0,8 - 1,0
Tyr	4,0 - 4,2
<u>Val</u>	4,5 - 5,4
<u>Lys</u>	6,3 - 7,6

Essentielle Aminosäuren sind unterstrichen. Der Gesamtgehalt essentieller Aminosäuren ist 32,6 % bis 36,8 %, Gesamtaminosäuren in der Trockensubstanz 87,1 %, in OS 82,2 %, Rohprotein (N*6,25) 85,6 % in der Trockensubstanz. Die Schwankungen sind typisch für Naturprodukte Mit dieser Erbseneiweißfraktion wird insbe-

sondere für die Herstellung konfektionierter Lebensmittel ein Protein zur Verfügung gestellt, das die erwähnten technologischen Vorteile bietet.

Ackerbohnen:

Bei Ackerbohnen findet Isolation analog zu Erbsen statt. Im Gegensatz zu Erbsen waren für die Fällung der Fraktion mittleren Molekulargewichts die pH-Werte 4,2 - 5,3 gleichwertig. Dies kommt den isoelektrischen Punkten der beiden Hauptproteinfraktionen (pH 5,5) und (pH 4,8) recht nahe. Die mittlere Fraktion hat ein Molekulargewicht zw. 20 kD und 116, Maxima bei ca. 36 und vor allem ca. 51 (Nebenbanden bei 66, 116 kD, ganz dünn 21 und 23 kD).

Die Aminosäurezusammensetzung der so erhaltenen Bohneneiweißfraktion mit einem Molekulargewicht zwischen 20 und 116 kD betrug:

Ala	3,0
Arg	9,5
Asp	11,0
Cys	1,0
Glu	16,1
Gly	3,3
His	2,9
<u>Ile</u>	4,7
<u>Leu</u>	7,9
<u>Met</u>	0,4
<u>Phe</u>	5,1
Pro	6,4
Ser	4,3
<u>Thr</u>	3,2
<u>Try</u>	0,8

Tyr 4,7

Val 4,6

Lys 5,7

Essentielle Aminosäuren sind unterstrichen. Der Gesamtgehalt essentieller Aminosäuren ist 32,4 %.

Herstellung von Erbseneiweiß

50 kg geschälte Erbsen (Handelsware der Sorte *Pisum sativum* L.) wurden in einer Mühle zerkleinert und 0,5 Std. bei pH 6,0 - 8,0 gequollen. Anschließend wurde Erbsenprotein haltige Lösung durch Auspressen der gequollenen Reibsel in einem Dekanter gewonnen. Die erbsenproteinhaltige Lösung wurde auf pH 5,5 gebracht und das ausgefällte Protein als Sedimentprotein in einem Schlammseparator separiert. Der flüssige Überstand wurde sodann auf 80 °C erhitzt und auf pH 5,0 unter Ausfällung der Proteinfraction mittleren Molekulargewichts gebracht. Die so ausgefällte Proteinfraction wurde in einem Dekanter abgetrennt. Die Fraktionen wurden gewaschen und 2,5 kg Sedimentprotein und 5 kg mittleres Protein mit jeweils ca. 7 % Restfeuchtigkeit in Form eines hellen Pulvers erhalten.

Herstellung von Ackerbohne Eiweiß

Die Herstellung des Eiweißes von Ackerbohnen erfolgte wie diejenige von Erbseneiweiß.

Die so hergestellten Ackerbohnenproteine wiesen ein mittleres Molekulargewicht im Bereich von Molekulargewicht zw. 20 kD und 116, Maxima bei ca. 51 und ca. 36 auf. Sie besitzen eine Funktionalität, welche in etwa derjenigen von Milchproteinen, wie Casein, entspricht und können in ähnlicher Weise eingesetzt werden.

Verwendung der Erbseneiweißfraktion als Emulgator in einer hypoallergen Salatcreme

43,2 % Rüböl wurden mit 10 % Salzeigelb, 34,08% Wasser, 6,00 % Erbsenprotein,

1,15% NaCl, 7,2% Zucker, 0,5% Kartoffelfaser, 0,03% Paprika, 0,01 % Carotin, 0,05% weißem Pfeffer, 7,14% 10%igen Branntweinessigs und 0,64 % scharfem Senf verrührt. Es entstand eine hypoallergene Salatcreme, in der Stärke und Eiweiß, die üblicherweise als Dickungsmittel und Emulgatoren verwendet werden, vermieden werden konnten, die eine gute Emulsionsstabilität sowie Haltbarkeit aufwies und geschmacklich nicht zu beanstanden war.

Verwendung der Erbseeiweißfraktion als Emulgator in hypoallergenem Tomatenketchup

30% 2-fach konzentriertes Tomatenmark, 35,4% Wasser, 9,5% 10%iget Branntweinessig, 19,00 % Zucker, 2,3% Salz, 2,5% Erbsenprotein, 0,5% Kartoffelfaser und 0,8% Zitronensäure wurden verrührt. Es wurde eine konservierungsmittelfreier Ketchup unter Austausch der sonst verwendeten Weizenstärke für Glutenallergiker erhalten.

Kohlenhydratreduzierter Nudelteig

150g Vollei, 400g Erbsenprotein, 5 g Guarkernmehl, 100 g Wasser, 60g Kartoffelfasern und 6 g Salz wurden zu einem Nudelteig verknetet und in Nudeln umgeformt sowie getrocknet. Es wurde ein Produkt mit niedrigem Kohlenhydratgehalt, insbesondere mit wenig schnell absorbierbaren Kohlenhydraten erhalten, das sich für die Gewichtsreduktion sowie Diabetiker eignet.

Proteinangereicherte Karottencremesuppe

300g Karotten, 200g Kartoffeln, 40g Lauchzwiebeln, 15g Petersilie, 500g Wasser, 100g Erbsenprotein, 10g Limonensaft, 250g Milch, 100 g saure Sahne, 2g schwarzer Pfeffer und 17 g Salz wurden zu einer Suppe von 1534 g verarbeitet. Diese Suppe eignet sich insbesondere als proteinangereicherte Aufbaukost.

Kaffeeweißer (Sahneersatz)

82,7 % Wasser, 10% Kokosnussöl, 5% Zucker, 2,25 % wasserlösliches Erbsenprotein und 0,05 % Xanthan wurden innig verrührt. Es entstand eine geschmacklich

neutrale, sahnartige Flüssigkeit, die als Sahneersatz, insbesondere als Kaffeesahne, für Milchprotein- und Lactoseallergiker einsetzbar ist.

Rinder-Patty

85% Rindfleisch, mager, 10,65 % Wasser , 3% Erbsenprotein, 1,2% Salz, 0,15 % schwarzer Pfeffer wurden verknetet und daraus Fleischbällchen geformt. Hier diente das Erbsenprotein der Wasserbindung, Texturverbesserung und als Extender.

Obwohl die Erfindung anhand bevorzugter Ausführungsbeispiele erläutert wurde, ist dem Fachmann ersichtlich, dass im Rahmen der Ansprüche mannigfaltige Abwandlungen derselben möglich sind, die ebenfalls unter den Schutzzumfang fallen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von koagulierten Leguminosenproteinfraktionen eines MG > 14, gekennzeichnet durch:

Vorlegen von Fruchtsaft ;

Koagulation des Leguminosenproteins;

Abtrennen einer Leguminosenproteinfraktion, deren Hauptmenge ein MG von größer 14 kD bis ca 600 kD besitzt

ggf. Waschen der so erhaltenen koagulierten Leguminosenproteinfraktion; und

ggf. Trocknen der Leguminosenproteinfraktion.

2. Verfahren zur Herstellung von koagulierten Leguminosenproteinfraktionen mit:

Fraktionierung der Leguminosenproteinfraktion nach Anspruch 1 durch:

Abtrennen einer hochmolekulargewichtigen Leguminosenproteinfraktion , deren Hauptmenge ein MG von größer 116 kD – ca. 600 kD besitzt,

Abtrennen einer mittelmolekularen koagulierten Leguminosenproteinfraktion der mittelmolekulargewichtigen koagulierten Leguminosenproteinfraktion mit einem MG zwischen etwa 14 - 120 kD, mit einem Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung zwischen 20 - 66 kD; aus der von der Abtrennung der hochmolekulargewichtigen Leguminosenproteinfraktion gewonnenen Lösung;

ggf. Waschen der koagulierten Leguminosenproteinfraktion/en; und

ggf. Trocknen der Leguminosenproteinfraktion.

3. Verfahren nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch:

Fällen der hochmolekulargewichtigen Leguminosenproteinfraktion, deren Hauptmenge ein MG von größer 116 kD bis ca. 600 kD besitzt, durch Einstellen eines pH-Wertes im Bereich des isoelektrischen Punktes im Fruchtsaft unter Ausfällen einer Fraktion und

Mechanisches Abtrennen der so ausgefällten Fraktion;

Fällen einer mittelmolekularen koagulierten Leguminosenproteinfraktion in der Wärme durch Behandeln der aus der Abtrennung der hochmolekulargewichtigen Leguminosenproteinfraktion gewonnenen Lösung bei pH 3 - 6 und zwischen 60 - 90°C, bevorzugt etwa 65 - 80 °C und

Mechanisches Abtrennen der mittelmolekulargewichtigen koagulierten Leguminosenproteinfraktion mit einem MG zwischen etwa 14 bis 120 kD, mit einem Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung zwischen 20 - 66 kD;

4. Verfahren nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch:

Fällen einer hochmolekulargewichtigen Leguminosenproteinfraktion, deren Hauptmenge ein MG von größer 116 kD bis ca. 600 kD besitzt, durch Belassen des nativen pH-Wertes des Fruchtsaftes sowie Einstellung der Temperatur auf Raumtemperatur bis 40 °C

mechanisches Abtrennen der so ausgefällten Fraktion;

Fällen einer mittelmolekularen koagulierten Leguminosenproteinfraktion in der Wärme durch Behandeln der nach der Abtrennung der hochmolekulargewichtigen Leguminosenproteinfraktion gewonnenen Lösung bei pH 3 – 6 „], und zwischen 60 - 90°C, bevorzugt etwa 70 - 80 °C und

Mechanisches Abtrennen der mittelmolekulargewichtigen koagulierten Leguminosenproteinfraktion mit einem MG zwischen etwa 14 - 97 kD, deren Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung zwischen 20 - 66 kD liegt;

5. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Waschen mit Wasser bei einer Temperatur von Raumtemperatur bis 80 °C, bevorzugt der Temperatur der Fällung, erfolgt.

6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei das Waschen bei einem pH - Wert im Bereich des isoelektrischen Punktes erfolgt

7. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die mechanische Abtrennung mit einem Dekanter erfolgt.

8. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Trennschritte unter oxidationswidrigen Bedingungen durchgeführt werden, wie durch Zugabe eines Reduktionsmittels, wie Ascorbinsäure, Natriumbisulfid oder SO_2 ; Arbeiten unter Schutzgas und das Arbeiten in gasdichten Anlagen.

9. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Leguminosenprotein ein Leguminosenprotein, Erbsenprotein, Ackerbohnenprotein, Lupinenprotein, Linsenprotein ist.

10. Koagulierte Leguminosenproteinfraktion mit einem $\text{MG} > 14 \leq 600$, herstellbar nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 - 9.

11. Koagulierte Leguminosenproteinfraktion mit einem mittleren Molekulargewicht zwischen 14 – 116 kD, herstellbar nach einem Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche 2 - 9, gekennzeichnet durch ein MG zwischen etwa 14 - 97 kD, wobei der Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung zwischen 20 - 66 kD liegt; mit einer Löslichkeit von zwischen 2 und 80 % in Wasser

12. Leguminosenproteinfraktion nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Erbsenproteinfraktion mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5, bevorzugt 4,1 - 5,4

isoelektrischer Punkt: 4,3

MG 14 - 97 kD, mit einem hohen Proteinanteil von 20/22 kD und 40 kD (SDS-Page)

13. Leguminosenproteinfraktion nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Ackerbohnenproteinfraktion mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5 bevorzugt 4,1 - 5,4

isoelektrischer Punkt: 4,8 – 5,4

MG 20 - 116 kD, mit einem hohen Proteinanteil von 36 kD und 51 kD (SDS-Page)

14. Leguminosenproteinfraktion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Ackerbohnenproteinkoagulat mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5 bevorzugt 4,1 - 5,4

MG 116 - etwa 600 kD (SDS-Page)

15. Leguminosenproteinfraktion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Erbsenproteinkoagulat mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5 bevorzugt 4,1 - 5,4

MG 97 - etwa 600 kD (SDS-Page)

16. Verwendung der Leguminosenproteinfraktion nach einem der vorangehenden Ansprüche als Lebensmittel, Nahrungsmittelzusatz, Arzneimittelzusatz, Tierfutter, in der Kosmetik, als technisches Eiweiß, als Kleber.

GEÄNDERTE ANSPRÜCHE

[beim Internationalen Büro am 17. März 2008 eingegangen]

1. Verfahren zur Herstellung von koagulierten Leguminosenfruchtproteinfraktionen eines Molekulargewichts > 14 , gekennzeichnet durch:

- Vorlegen von Fruchtsaft aus Leguminosenfrüchten;
- Koagulation einer Leguminosenfruchtproteinfraktion aus dem Fruchtsaft durch ein Verfahren ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Einstellen eines pH-Wertes im Bereich von 3 - 6 und Temperaturerhöhung auf zwischen 50 und 85°C; und
- Abtrennen der Leguminosenfruchtproteinfraktion, deren Hauptmenge ein Molekulargewicht von größer 14 kD bis 600 kD besitzt

2. Verfahren zur Herstellung von koagulierten Leguminosenfruchtproteinfraktionen nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch:

- Abtrennen einer hochmolekulargewichtigen Leguminosenfruchtproteinfraktion, deren Hauptmenge ein Molekulargewicht von größer 116 kD – 600 kD besitzt, durch Ausfällen durch Belassen oder Einstellen des pH-Wertes des Leguminosenfruchtsafts im Bereich von 3 - 6 bei einer Temperatur von Raumtemperatur bis 40 °C und mechanisches Abtrennen der hochmolekulargewichtigen Leguminosenfruchtproteinfraktion vor dem
- Fällen einer mittelmolekularen koagulierten Leguminosenfruchtproteinfraktion mit einem Molekulargewicht zwischen etwa 14 - 120 kD, mit einem Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung zwischen 20 - 66 kD aus der aus der Abtrennung der hochmolekulargewichtigen Leguminosenfruchtproteinfraktion gewonnenen Lösung durch Erwärmen auf eine Temperatur zwischen 60 und 90°C, bevorzugt zwischen 65 und 80°C bei pH 3 bis 6 und mechanisches Abtrennen der mittelmolekulargewichtigen koagulierten Leguminosenfruchtproteinfraktion.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet durch Waschen der so erhaltenen koagulierten Leguminosenfruchtproteinfraktion(en) mit Wasser.

GEÄNDERTES BLATT (ARTIKEL 19)

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet durch Trocknen der Leguminosenfruchtproteinfraktion(en).
5. Verfahren nach Anspruch 3 oder 4, wobei das Waschen mit Wasser bei einer Temperatur von Raumtemperatur bis 80 °C, bevorzugt der Temperatur der Fällung, erfolgt.
6. Verfahren nach Anspruch 3 bis 5, wobei das Waschen bei einem pH - Wert im Bereich des isoelektrischen Punktes erfolgt
7. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die mechanische Abtrennung mit einem Dekanter erfolgt.
8. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Trennschritte unter oxidationswidrigen Bedingungen durchgeführt werden, wie durch Zugabe eines Reduktionsmittels, wie Ascorbinsäure, Natriumbisulfit oder SO₂; Arbeiten unter Schutzgas und das Arbeiten in gasdichten Anlagen.
9. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Leguminosenfruchtprotein ein Erbsenprotein, Bohnenprotein, Lupinenprotein, Linsenprotein ist.
10. Koagulierte Leguminosenfruchtproteinfraktion mit einem Molekulargewicht > 14 ≤ 600 , herstellbar nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 - 9.
12. Koagulierte Leguminosenfruchtproteinfraktion mit einem mittleren Molekulargewicht, herstellbar nach einem Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche 2 - 9, mit einem Molekulargewicht zwischen etwa 14 - 97 kD, wobei der Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung zwischen 20 - 66 kD liegt; mit einer Löslichkeit von zwischen 2 und 80 % in Wasser
13. Leguminosenfruchtproteinfraktion nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Erbsenproteinfraktion mit den nachfolgenden Parametern ist:

GEÄNDERTES BLATT (ARTIKEL 19)

pH: 4,0 - 5,5, bevorzugt 4,1 - 5,4

isoelektrischer Punkt: 4,3

Molekulargewicht 14 - 97 kD, mit einem hohen Proteinanteil von 20/22 kD und 40 kD (SDS-Page)

14. Leguminosenfruchtproteinfraktion nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Ackerbohnenproteinfraktion mittleren Molekulargewichts mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5 bevorzugt 4,1 - 5,4

isoelektrischer Punkt: 4,8 – 5,4

Molekulargewicht 20 - 116 kD, mit einem hohen Proteinanteil von 36 kD und 51 kD (SDS-Page)

15. Leguminosenfruchtproteinfraktion nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Ackerbohnenproteinfraktion höheren Molekulargewichts mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5 bevorzugt 4,1 - 5,4

Molekulargewicht 116 - etwa 600 kD (SDS-Page)

16. Leguminosenfruchtproteinfraktion nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Erbsenproteinkoagulat mit den nachfolgenden Parametern ist:

pH: 4,0 - 5,5 bevorzugt 4,1 - 5,4

Molekulargewicht 97 - etwa 600 kD (SDS-Page)

17. Verwendung der Leguminosenfruchtproteinfraktion nach einem der vorangehenden Ansprüche als Lebensmittel, Nahrungsmittelzusatz, Arzneimittelzusatz, Tierfutter, in der Kosmetik, als technisches Eiweiß, als Kleber.

GEÄNDERTES BLATT (ARTIKEL 19)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2007/001724

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A23J1/14 A23L1/035 A23L1/305 A23L1/314 A23K1/16
 A61K8/64 A61K47/42 C09H3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23J A23L A23K A61K C09H

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, FSTA, BIOSIS, COMPENDEX

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 29 22 247 A1 (WOODSTONE FOODS LTD) 6 December 1979 (1979-12-06) page 1, paragraph 1; claims 1-5; examples	1-16
X	O'KANE ET AL.: "Characterization of Pea Vicilin. 1. Denoting Convicilin as the alpha-Subunit of the Pisum Vicilin Family" JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, vol. 52, no. 10, 2004, pages 3141-3148, XP002467149 page 3142, left-hand column, paragraph 3; figure 1 page 3147, right-hand column, paragraph 1 ----- -/--	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 Februar 2008

Date of mailing of the international search report

11.02.2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentplan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 81 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, Jürgen

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2007/001724

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHAKRABORTY ET AL.: "Ultracentrifugation of Salt-soluble Proteins in Ten Legume Species" JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE, vol. 30, no. 8, 1979, pages 766-771, XP008088079 the whole document	1,2,4-16
X	SCHMANDKE ET AL.: "Über den Einfluss des leicht- und schwerlöslichen Anteils von Vicia-faba-Proteinisolat auf die funktionellen Eigenschaften von Proteinfasern" DIE NAHRUNG, vol. 25, no. 4, 1981, pages 379-389, XP002467150 page 380, lines 8-17	1-11,13, 14,16
X	DD 214 527 A1 (AKAD WISSENSCHAFTEN DDR [DD]) 17 October 1984 (1984-10-17) page 1, paragraph 1; examples	1,5,6, 8-10, 14-16
X	EP 1 400 537 A (ROQUETTE FRERES [FR]) 24 March 2004 (2004-03-24) example 1	1,7-12, 15
X	DATABASE WP1 Week 199646. Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1996-462955 XP002380067 & RU 2 054 265 C1 (BOGRACHEVA T YA) 20 February 1996 (1996-02-20) abstract	1,9-12, 15,16
P,X	WO 2007/017572 A (ROQUETTE FRERES [FR]; PASSE DAMIEN [FR]; FOUACHE CATHERINE [FR]; VERRI) 15 February 2007 (2007-02-15) claims; example 1	1,5-12, 15,16
P,X	FR 2 889 417 A (ROQUETTE FRERES [FR]) 9 February 2007 (2007-02-09) page 1, paragraph 2; example 1	1,5-12, 15,16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DE2007/001724

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 2922247	A1	06-12-1979	CA 1104871 A1	14-07-1981
			JP 1429343 C	09-03-1988
			JP 55000098 A	05-01-1980
			JP 62034372 B	27-07-1987
			US 4766204 A	23-08-1988
			US 5034227 A	23-07-1991
DD 214527	A1	17-10-1984	NONE	
EP 1400537	A	24-03-2004	AT 325134 T	15-06-2006
			AU 2003246327 A1	01-04-2004
			CA 2442940 A1	18-03-2004
			CN 1494833 A	12-05-2004
			DE 60304958 T2	04-01-2007
			DK 1400537 T3	11-09-2006
			FR 2844515 A1	19-03-2004
			PL 362271 A1	22-03-2004
			US 2004091600 A1	13-05-2004
RU 2054265	C1	20-02-1996	NONE	
WO 2007017572	A	15-02-2007	FR 2889416 A1	09-02-2007
FR 2889417	A	09-02-2007	WO 2007017571 A1	15-02-2007

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2007/001724

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. A23J1/14 A23L1/035 A23L1/305 A23L1/314 A23K1/16
A61K8/64 A61K47/42 C09H3/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

A23J A23L A23K A61K C09H

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, FSTA, BIOSIS, COMPENDEX

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 29 22 247 A1 (WOODSTONE FOODS LTD) 6. Dezember 1979 (1979-12-06) Seite 1, Absatz 1; Ansprüche 1-5; Beispiele -----	1-16
X	O'KANE ET AL.: "Characterization of Pea Vicilin. 1. Denoting Convicilin as the alpha-Subunit of the Pisum Vicilin Family" JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, Bd. 52, Nr. 10, 2004, Seiten 3141-3148, XP002467149 Seite 3142, linke Spalte, Absatz 3; Abbildung 1 Seite 3147, rechte Spalte, Absatz 1 ----- -/--	1-16



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

1. Februar 2008

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

11/02/2008

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, Jürgen

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2007/001724

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CHAKRABORTY ET AL.: "Ultracentrifugation of Salt-soluble Proteins in Ten Legume Species" JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE, Bd. 30, Nr. 8, 1979, Seiten 766-771, XP008088079 das ganze Dokument	1,2,4-16
X	SCHMANDKE ET AL.: "Über den Einfluss des leicht- und schwerlöslichen Anteils von Vicia-faba-Proteinisolat auf die funktionellen Eigenschaften von Proteinfasern" DIE NAHRUNG, Bd. 25, Nr. 4, 1981, Seiten 379-389, XP002467150 Seite 380, Zeilen 8-17	1-11,13, 14,16
X	DD 214 527 A1 (AKAD WISSENSCHAFTEN DDR [DD]) 17. Oktober 1984 (1984-10-17) Seite 1, Absatz 1; Beispiele	1,5,6, 8-10, 14-16
X	EP 1 400 537 A (ROQUETTE FRERES [FR]) 24. März 2004 (2004-03-24) Beispiel 1	1,7-12, 15
X	DATABASE WPI Week 199646 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1996-462955 XP002380067 & RU 2 054 265 C1 (BOGRACHEVA T YA) 20. Februar 1996 (1996-02-20) Zusammenfassung	1,9-12, 15,16
P,X	WO 2007/017572 A (ROQUETTE FRERES [FR]; PASSE DAMIEN [FR]; FOUACHE CATHERINE [FR]; VERRI) 15. Februar 2007 (2007-02-15) Ansprüche; Beispiel 1	1,5-12, 15,16
P,X	FR 2 889 417 A (ROQUETTE FRERES [FR]) 9. Februar 2007 (2007-02-09) Seite 1, Absatz 2; Beispiel 1	1,5-12, 15,16

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2007/001724

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 2922247	A1	06-12-1979	CA 1104871 A1 14-07-1981
			JP 1429343 C 09-03-1988
			JP 55000098 A 05-01-1980
			JP 62034372 B 27-07-1987
			US 4766204 A 23-08-1988
			US 5034227 A 23-07-1991
DD 214527	A1	17-10-1984	KEINE
EP 1400537	A	24-03-2004	AT 325134 T 15-06-2006
			AU 2003246327 A1 01-04-2004
			CA 2442940 A1 18-03-2004
			CN 1494833 A 12-05-2004
			DE 60304958 T2 04-01-2007
			DK 1400537 T3 11-09-2006
			FR 2844515 A1 19-03-2004
			PL 362271 A1 22-03-2004
			US 2004091600 A1 13-05-2004
RU 2054265	C1	20-02-1996	KEINE
WO 2007017572	A	15-02-2007	FR 2889416 A1 09-02-2007
FR 2889417	A	09-02-2007	WO 2007017571 A1 15-02-2007