DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT

(12) Wirtschaftspatent

(19) DD (11) 279 141 A3

Erteilt gemäß § 18 Absatz 2 Patentgesetz

4(51) A 23 J 1/14

PATENTAMT der DDR

(21)	WP A 23 J / 315 699 3	(22)	12.05.88	(45)	30.05.90

(71) VEB Schwermaschinenbau-Kombinat „Ernst Thälmann" Magdeburg, Marienstraße 20, PSF 77, Magdeburg, 3011, DD

(72) Pohl, Joachim, Dr. rer. nat.; Mieth, Gerhard, Dr. rer. nat.; Caspers, Gerald, Dipl.-Ing.; Roloff, Marianne; Kalisch, Heinz, Dr. rer. nat.; König, Winfried, Dipl.-Ing.; Neupert, Frank, Dipl.-Ing.; Eversmann, Christp, Dipl.-Ing., DD

(54) Verfahren zur Gewinnung und Reinigung von Proteinisolaten aus Sonnenblumensamen

(55) Proteinisolat; Sonnenblumensamen; Lebensmittel; ernährungsphysiologische Aufwertung; Abprodukt; Extraktion; Präzipitation; Elektrolytgehalt

(57) Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren zu schaffen, das die Gewinnung und Reinigung von Proteinisolaten aus Sonnenblumensamen mit einfachen, beherrschbaren Mitteln sichert und eine ökonomisch interessante Verwertung der anfallenden Abprodukte unter ökologisch günstigen Bedingungen gestattet. Erfindungsgemäß wird das entfettete Sonnenblumensamenmehl zwecks Entfernung löslicher Kohlenhydrate einer Vorextraktion mit Wasser unterworfen. Der resultierende Rückstand wird mit elektrolythaltigem Wasser zur Extraktion der Proteine weiterverarbeitet, wobei der nach der Proteinpräzipitation anfallende Überstand gemeinsam mit dem Proteinwaschwasser nach Einstellung des Elektrolytgehaltes und *p*H-Wertes in den Extraktionskreislauf zurückgeführt wird. Bei Erreichung eines Trockensubstanzgehaltes von etwa 10% erfolgt eine Reinigung durch eine Kombination von Ultrafiltration, Umkehrosmose und Adsorption und danach eine erneute Rückführung in den Extraktionskreislauf.

ISSN 0433-6461

4 Seiten

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Gewinnung und Reinigung von Proteinsolaten aus Sonnenblumensamen durch Vorextraktion mit Wasser, Separierung, Extraktion und Präzipitation von entfetteten, geschälten und gemahlenen Sonnenblumensamen, **dadurch gekennzeichnet,** daß nacheinander folgende Verfahrensschritte durchgeführt werden:
   - Vorextraktion mit Wasser im *p*H-Wert-Bereich außerhalb des isoelektrischen Punktes der Globuline bei einer Temperatur von 30°C bis 40°C und einer Verweilzeit von 30 min bis 40 min und unter Einhaltung eines Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnisses von 1:8 bis 1:12;
   - separative Abtrennung des Vorextraktes vom Rückstand;
   - zweistufige Gegenstromextraktion des Rückstandes der Vorextraktion mit 2- bis 3%iger wäßriger Lösung von Alkali- oder Erdalkalisalzen bei einem *p*H-Wert von 5,0 bis 6,0, einer Temperatur von 50°C bis 90°C, Verweilzeiten von 10 min bis 30 min und bei Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnissen von 1:8 bis 1:10;
   - isoelektrische Präzipitation der Globuline aus dem Extrakt der zweistufigen Gegenstromextraktion bei *p*H-Werten von 3,5 bis 4,5;
   - Waschung und Trocknung der abseparierten Globuline;
   - Rückführung der vereinigten Überstände der Globulinpräzipitation und -waschung als Extraktionsmedium für Globuline in die 2. Stufe der Gegenstromextraktion nach einer Regulierung des *p*H-Wertes und der Ionenstärke auf die für die Globulinextraktion erforderlichen
   - Milieubedingungen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Rückführung des Überstandes nach der Globulinpräzipitation in den Extraktionskreislauf bis zu einer Anreicherung der Trockensubstanz auf einen Wert von über 10% erfolgt und bei Überschreitung dieses Grenzwertes zur Eliminierung von Albuminen, Mineralstoffen und Phenolsäuren physikochemische Aufbereitungsoperationen durchgeführt werden und danach eine Rückführung erfolgt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung und Reinigung von Proteinisolaten aus Sonnenblumensamen. Bevorzugtes Applikationsfeld der Isolate ist die Proteinsupplementierung und -anreicherung traditioneller Lebensmittel zwecks Erzielung spezifischer funktionell-anwendungstechnischer Effekte und ernährungsphysiologischer Aufwertung.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Proteinsolate aus Sonnenblumensamen werden bekannterweise durch Extraktion mit wäßrigen Elektrolytlösungen unterschiedlicher Ionenstärke und anschließender isoelektrischer Präzipitation der gelösten Proteine mit nachfolgender Entfernung der Salze und anderer unerwünschter Bestandteile durch Waschung gewonnen.
Als Elektrolyte werden Salze hoher Ionenstärke, hauptsächlich Natriumsulfat, Kalziumchlorid und Natriumchlorid, im schwachsauren *p*H-Bereich eingesetzt. Nicht geeignet sind hingegen alkalische Extraktionsmedien.
Die Nichteignung resultiert aus der im alkalischen Bereich ablaufenden chemischen Oxydation von Phenolsäuren.
Diese Oxydation führt zu einer nichtreversiblen Verfärbung des Finalproduktes. Bekannt sind zwar Verfahren, bei denen zur Verhinderung der Oxydation Sulfit eingesetzt wird, doch haben diese Verfahren den Nachteil, daß ein sensorisch minderwertigeres Produkt entsteht.
Nachteilig bei den Verfahren, die unter Einsatz von Elektrolytlösungen ablaufen, ist, daß für das anfallende Abprodukt, das speziell aus dem salzhaltigen Überstand der Präzipitation anfällt und mit nichtpräzipitierbaren Stickstoffverbindungen und Kohlenhydraten angereichert ist, keine sinnvolle Verarbeitungs- oder Verwertungsmöglichkeit bekannt ist.
Eine direkte Einleitung des Abproduktes in das Abwassernetz oder direkt in Oberflächengewässer kommt auf Grund der hohen Belastung mit organischen und anorganischen Bestandteilen nicht in Betracht.
Ein eventueller aerober Abbau der organischen Substanz durch Belüftung wäre auf Grund des außerordentlich hohen biologischen Sauerstoffbedarfs, der nur mit einem relativ großen Energieeintrag erreichbar ist, ökonomisch nicht vertretbar.
Ein anaerober Abbau der organischen Substanz zum Zweck der Biogasgewinnung ist wegen des hohen Salzgehaltes uneffektiv, da im Falle der Anwesenheit von Sulfat- oder Chloridionen die Methangasbildung stark gehemmt abläuft.
Eine Konzentrierung durch Eindampfung ist – abgesehen von energetischen Aspekten – ökonomisch ebenfalls nicht sinnvoll, da eine Verfütterung des resultierenden Sirups oder sogar Trockenfutterstoffes auf Grund des hohen Salzgehaltes nur bedingt möglich ist.
Somit kommt nur eine ordnungsgemäße Deponierung in Frage. Als weiteres Abprodukt ist der weitgehend aus unlöslichen Kohlenhydraten und Proteinen bestehende Rückstand der Proteinextraktion von Interesse. Dieser Rückstand ist sehr wasserhaltig (85–98%), so daß zu dessen Trocknung ein erheblicher Energiebedarf notwendig ist. Das resultierende Trockenprodukt wird hauptsächlich in der Futtermittelindustrie eingesetzt, bringt aber auf Grund seines geringen Futterwertes

keinen, den hohen Trocknungskosten äquivalenten Verkaufserlös. Die direkte Verfütterung des Feuchtproduktes stellt zwar eine geeignete Verwertungsform dar, setzt aber auf Grund der geringen biologischen Haltbarkeit einen kontinuierlichen Absatz voraus.
Zusammenfassend ist also zu sagen, daß die gegenwärtig bekannten Verfahren zur Gewinnung von Proteinisolaten aus Sonnenblumensamen keine Möglichkeit der ökonomisch sinnvollen und ökologisch tragbaren Verwertung der Abprodukte gewährleisten.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren zu schaffen, das die Gewinnung und Reinigung von Proteinisolaten aus Sonnenblumensamen mit einfachen, beherrschbaren Mitteln sichert und eine ökonomisch interessante Verwertung der anfallenden Abprodukte unter ökologisch günstigen Bedingungen gestattet.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Gewinnung und Reinigung von Proteinisolaten aus Sonnenblumensamen aufzuzeigen, bei dem der Verbrauch von Elektrolyten weitestgehend minimiert wird und ein Abprodukt entsteht, das biologisch abbaubar ist. Es gehört weiterhin zur Aufgabe der Erfindung, den Energieverbrauch für die Gewinnung und Reinigung derartiger Proteinisolate gegenüber bisher bekannten Verfahren zu senken.
Erfindungsgemäß werden entfettete, geschälte und zerkleinerte Sonnenblumensamen in einer ersten Verfahrensstufe mit schwach saurem Wasser im *p*H-Wert-Bereich oberhalb des isoelektrischen Punktes der Globuline bei Temperaturen von 30°C bis 40°C vorextrahiert.
In einer zweiten Verfahrensstufe erfolgt eine separative Abtrennung des überwiegend mit löslichen Kohlenhydraten, Albuminen, nichtproteinogenen Stickstoffverbindungen und freien Phenolsäuren angereicherten Vorextraktes vom bestehenden Rückstand, der überwiegend aus unlöslichen Kohlenhydraten, Globulinen, Glutelinen und gebundenen Phenolsäuren besteht.
In einem dritten Verfahrensschritt werden die Globuline durch eine zweistufige Gegenstromextraktion aus dem Rückstand der Vorextraktion und Separation mittels 2–3%iger wäßriger Lösung von Alkali- oder Erdalkalisalzen, vorzugsweise Natriumsulfat oder Kalziumchlorid bei *p*H-Werten oberhalb des isoelektrischen Punktes der Globuline herausgelöst.
In einem weiteren, vierten Verfahrensschritt erfolgt eine isoelektrische Präzipitation der Globuline aus dem anfallenden Extrakt bei einem *p*H-Wert von 3,5 bis 4,5. Das Präzipitat wird anschließend gewaschen, und nach einer *p*H-Wert-Regulierung, Separierung und Trocknung erhält man ein Proteinisolat.
Es gehört ebenfalls zur Erfindung, daß die elektrolythaltigen Überstände aus der Präzipitation und aus der Präzipitatwaschung nach einer Einstellung auf den erforderlichen *p*H-Wert als Extraktionsmedium in den Kreislauf zurückgeführt werden.
Die Rückführung kann gegebenenfalls unter Zwischenschaltung physikochemischer Aufbereitungsoperationen zur Eliminierung von Albuminen, Mineralstoffen und Phenolsäuren erfolgen. Derartige Aufbereitungsoperationen sind Kombinationen von Ultrafiltration und Umkehrosmose vorzugsweise mit Celluloseacetatmembranen sowie Adsorption durch synthetische Polyamide und Polyvinylpyrrolidone. Durch diese Verfahrensweise ist garantiert, daß die üblicherweise im Überstand gehaltenen nichtpräzipitierbaren Stickstoffverbindungen und löslichen Kohlenhydrate im salzfreien Extrakt der Vorwaschung angereichert werden und gemeinsam mit dem Rückstand der Globulinextraktion problemlos einer anaeroben oder aeroben Fermentation unterzogen werden können.
Der salzhaltige Extrakt zirkuliert hingegen im geschlossenen System der zweistufigen Gegenstromextraktion.
Ein Salzzusatz ist nur noch in dem Maße notwendig, wie Salz aus dem Verfahrenskreislauf austritt.
Die Extraktionsbedingungen entsprechen dabei den an sich bekannten Erfordernissen für die Gewinnung von Proteinen aus Sonnenblumensamen.
Die Temperaturführung für die Vorwaschung und die zwei Stufen der Gegenstromextraktion ergibt sich dabei aus qualitativen und quantitativen Erfordernissen. So erweist sich die Temperatur von 30°C bis 40°C bei der Vorwaschung als optimal sowohl im Hinblick auf die Effektivität der Extraktion, als auch für die nachfolgende mikrobielle Stoffproduktion und -transformation der Extraktstoffe, z. B. in Biomasse oder Biogas, da derartige Fermentationsprozesse meist ihr Temperaturoptimum zwischen 30°C und 40°C haben. Die relativ hohe Temperatur von etwa 80°C in der 1. Extraktionsstufe der 2stufigen Gegenstromextraktion ist erforderlich für die Gewinnung von Proteinisolaten mit verbesserten sensorischen Eigenschaften, insbesondere heller Farbe. In der 2. Stufe der Gegenstromextraktion ist zudem eine Temperatur von etwa 50°C ausreichend, die sich durch den Temperaturabfall während der Verarbeitung und der Zudosierung des auf Raumtemperatur eingestellten Waschwassers der Globulinfraktion ergibt, da eine Phenoloxydase-Inaktivierung bereits in der 1. Extraktionsstufe erfolgt ist.
Wie überraschenderweise gefunden wurde, resultiert bei mehrmaliger Rezyklisierung der vereinigten Überstände und Waschwasser des Proteinpräzipitates zwar eine Erhöhung des Trockensubstanzgehaltes in den Überständen, dieser übt jedoch weder einen negativen Einfluß auf die Proteinausbeute noch auf den Proteingehalt des Proteinisolates aus. Bezogen auf den Proteingehalt des Augangsmaterials beträgt die Proteinausbeute unter den gewählten Bedingungen etwa 40%, ohne daß bei Rezyklisierung eine Abnahme zu verzeichnen ist. Die Proteingehalte der Isolate liegen in der Trockensubstanz bei 95–98% (Umrechnungsfaktor Proteingehalt = N × 6,25); auch hier wird eine Erniedrigung nicht beobachtet. Ebenso ist keine Verschlechterung der Farbe der Proteinisolate im Verlaufe der einzelnen Extraktionszyklen zu bemerken.
Im Falle einer Erhöhung der Trockensubstanz im Extraktionsmittel auf Werte von über 10%, die durch eine übermäßige Anreicherung an löslichen Kohlenhydraten und nicht präzipitierbaren Proteinen auftritt, ist eine an sich bekannte Entfernung dieser Stoffe durch Kombination von Ultrafiltration, Umkehrosmose und Adsorption mit anschließender Rückführung des Prozeßwassers in den Extraktionskreislauf möglich. Alternativ kann auch eine Eindampfung vorgenommen werden. Diese Operationen sind bei einem Trockensubstanzgehalt ab etwa 10% in dem für die Rezyklisierung vorgesehenen Überstand durchzuführen. Durch diese Verfahrensweise ist eine gegenüber üblichen Verfahren erhebliche Effektivitätssteigerung festzustellen. Weiterhin ist eine weitestgehende Minimierung des Elektrolytverbrauches zu verzeichnen, da nur die Menge an

Elektrolyt dem Extraktionszyklus zugefügt werden muß, die der Abführung von feuchtem Rückstand aus dem Prozeß entspricht.
Zu den vorteilhaften Wirkungen der Erfindung gehört ebenfalls, daß gegenüber bisher bekannten Verfahren zur Gewinnung und Reinigung von Sonnenblumensamen-Protein solaten erhebliche Elektroenergieeinsparungen wirksam werden.
Dadurch, daß keine biologisch nicht abbaubaren Stoffe den Verfahrenskreislauf verlassen, zeichnet sich das Verfahren durch eine gute Umweltfreundlichkeit aus. Aus den Abprodukten des Verfahrens können durch Fermentation noch Energieträger in Form von Methan oder aber auch Biomassen für die Tierproduktion gewonnen werden. Auch eine direkte Verfütterung von Abprodukten ist möglich.

Ausführungsbeispiel

100kg geschälte, gemahlene und nach bekannten Verfahren entfettete Sonnenblumensamen werden in 900l Wasser suspendiert.
In der Suspension wird ein *p*H-Wert von 4,5 konstant gehalten, die Temperatur wird bei 40°C gehalten.
Nach einer Rührzeit von 15min wird der Rückstand mittels Dekanter vom wäßrigen Extrakt abgetrennt. Dieses Vorwaschwasser wird einem Reaktor zur Biogasgewinnung zugeführt.
Der Rückstand wird zur Extraktion der Globuline mit 900l 2%iger Natriumsulfatlösung bei 80°C und einem *p*H-Wert von 6,0 gerührt. Um den durch absorbiertes Wasser aus dem Rückstand der Vorwaschung bedingten Verdünnungseffekt der Extraktionslösung zu eliminieren, werden weitere 2,5kg Natriumsulfat zugesetzt. Nach 15min Rühren wird mittels Dekanter ein Rückstand vom Extrakt getrennt. Aus dem Extrakt werden durch Schwefelsäurezusatz bei einem *p*H-Wert von 4,2 Globuline ausgefällt und mittels Düsenseparator in eine feuchte Proteinsuspension und einen Überstand getrennt. Die feuchte Proteinsuspension wird mit 250l Wasser gewaschen und erneut separiert. Die gewaschene Proteinsuspension wird durch Zugabe von Natronlauge auf einen *p*H-Wert von 6,0 eingestellt und anschließend getrocknet. Es werden 17,2kg Proteinisolat mit einem Proteingehalt von 96% i. T. erhalten, das entspricht einer 40%igen Proteinausbeute. Der Überstand und das Proteinwasser werden unter *p*H-Wert-Regulierung auf 6,0 vereinigt und mit dem Rückstand der 1. Extraktion kombiniert. Zur Einstellung des notwendigen Elektrolytgehaltes werden 5kg Natriumsulfat hinzugefügt, die Temperatur liegt bei 50°C.
Nach Dekantieren wird der Extrakt in die 1. Extraktionsstufe geführt und mit 100kg entfettetem Sonnenblumenmehl, das durch Vorextraktion mit Wasser behandelt wurde, suspendiert. Aus dem Extrakt werden die Globuline präzipitiert und in bekannter Weise aufgearbeitet. Der Rückstand nach der 2. Extraktion und das Vorwaschwasser werden vereinigt und z. B. einer anaeroben Biogasgewinnung zugeführt. Dieser Kreislauf wiederholt sich, bis der Trockensubstanzgehalt im Überstand 10% erreicht hat, was in der Regel nach etwa dem 25. Zyklus der Fall ist. Danach wird der Überstand zwecks Entfernung der nichtpräzipitierbaren Proteine, löslichen Kohlenhydrate und Phenolsäuren einer Reinigung durch Ultrafiltration zwecks Abtrennung von Proteinen und Kohlenhydraten, einer Umkehrosmose zwecks Abtrennung von Mineralstoffen und einer Adsorption durch synthetische Polymere zwecks Abtrennung von Phenolsäuren unterworfen. Das gewonnene Wasser wird in den Extraktionskreislauf zurückgeführt.