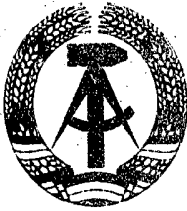


(19) DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT



Ausschliessungspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

208 543

Int.Cl.³

3(51) A 23 J 1/18

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) AP A 23 J/ 2445 342
(31) P3143947.0

(22) 03.11.82
(32) 05.11.81

(44) 04.04.84
(33) DE

(71) siehe (73)
(72) SCHARF, UDO, DR.; SCHLINGMANN, MERTEN, DR.; RYMON LIPINSKI, GERT-WOLFHARD VON, DR.; DE;
(73) HOECHST AG, FRANKFURT/MAIN, DE
(74) IPB (INTERNATIONALES PATENTBUERO BERLIN) 61539/11/39 1020 BERLIN WALLSTR. 23/24

(54) **VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINES FUNKTIONELLEN HYDROLYSATS AUS MIKROBIELLEN
EIWEISSISOLATEN**

(57) Funktionelle Hydrolysate aus mikrobiellen Eiweißisolaten mit — einem Proteingehalt über 90 Gew.-%, — einem Nukleinsäuregehalt unter 2 Gew.-%, — einem Lipidgehalt unter 1 Gew.-%, — einer Suspendierbarkeit von 0–1 %, — einer Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 4 bis 7, — einer Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 10 bis 300 min., — einer Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 300 bis 500 ml Öl/g Protein, — einem Molekulargewicht zwischen 125000 und 100 Dalton, und daraus gewonnene Fraktionen von Eiweißhydrolysaten werden aus mikrobiellen Eiweißstoffen nach Extraktion der Nukleinsäuren und Lipide durch enzymatische Hydrolyse erhalten. Die Hydrolysate eignen sich als Nahrungsmittelzusätze.

244534 2

-1-

AP A 23 J/ 244 534/2
61 539 11

Verfahren zur Herstellung eines funktionellen Hydrolysats
aus mikrobiellen Eiweißisolaten

Anwendungsgebiet der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung funktioneller Eiweißderivate aus mikrobiellen Proteinen, die zur Herstellung von Nahrungsmitteln verwendet werden können.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Die Herstellung von mikrobiellen Proteinen ist in vielen Veröffentlichungen bereits beschrieben worden. Ein besonders vorteilhaftes Verfahren ist aus der DE-PS 2 633 451 bekannt, bei dem eine proteinreiche Bakterienzellmasse durch Züchtung von Bakterien des Stammes *Methylomonas clara* ATCC 31 226 in einem Methanol enthaltenden Nährmedium gewonnen wird. Aus dem so gewonnenen Bioprotein läßt sich ein für Nahrungsmittelzwecke geeignetes Eiweißisolat herstellen, in dem nach dem Verfahren der DE-AS 2 633 666 durch Extraktion mit einem besonderen Lösungsmittelgemisch der Lipid- und Nucleinsäuregehalt erheblich reduziert wird. Ohne die Verminderung des in mikrobiell hergestellten Proteinen besonders hohen Gehaltes an Nucleinsäuren sind derartige Bioproteine für Nahrungsmittelzwecke, insbesondere für die menschliche Ernährung, nicht einsetzbar, da die Nucleinsäuren im menschlichen Organismus nicht vollständig abgebaut und Abbauprodukte nur in unzureichendem Maße ausgeschieden werden. Es kann deshalb zur Anreicherung von Nucleinsäure-Abbauprodukten im Organis-

244534 2 - 2 -

mus kommen und dadurch können krankhafte Erscheinungen - wie Gicht - hervorgerufen werden.

Obwohl die nach dem Verfahren der DE-AS 2 633 666 gewonnenen Eiweißisolate hochwertige Proteine sind, sind ihrem Einsatz in Nahrungsmitteln Grenzen gesetzt, weil ihre lebensmitteltechnologischen Eigenschaften noch nicht allen Anforderungen genügen. Von neuen Eiweißstoffen werden neben guten ernährungsphysiologischen Eigenschaften je nach dem vorgesehenen Einsatzgebiet eine gute Löslichkeit oder Suspendierbarkeit, eine hohe Schäumbarkeit und Schaumstabilität sowie eine den jeweiligen Ansprüchen genügende Ölbindefestigkeit und Emulsionskapazität verlangt. Welche dieser funktionellen Eigenschaften vor allem benötigt wird, hängt von der jeweils vorgesehenen Anwendung des Proteins ab. Soll es beispielsweise zur Verbesserung der Eigenschaften einer Mayonnaise verwendet werden, dann wird von ihm vor allem die Fähigkeit verlangt, Emulsionen stabilisieren zu können. Soll es dagegen in einem Schaumgebäck wie einem Baiser angewendet werden, dann wird man von einem dazu geeigneten Eiweiß vor allem hohe Schäumbarkeit und Schaumstabilität verlangen. Ist dagegen sein Einsatz als Kaffeeaufheller geplant, dann ist es neben der Emulsionskapazität besonders wichtig, daß das Eiweiß gut löslich ist.

Um diesen vielfältigen Anforderungen gerecht zu werden, hat es deshalb schon zahlreiche Vorschläge zur Modifizierung von Proteinen gegeben. So sind aus der JP-OS Sho 53-6491 bereits zur Schaumbildung geeignete, wasserlösliche Eiweißstoffe bekannt, die durch proteolytischen Abbau mikrobiell

244534 2 - 3 -

hergestellter Proteine gewonnen werden. Die so erhaltenen Eiweißstoffe sollen auch zur Schaumbildung in Feuerlöschmitteln und im Zement einsetzbar sein.

Aus der GB-PS 2 043 651 ist ein Verfahren zur Herstellung eines von Proteinen und Makropeptiden befreiten Eiweißhydrolysats durch Anwendung der Ultrafiltration bekannt. Dadurch wird ein Gemisch von Peptiden niedrigen Molekulargewichtes erhalten, das als diätetisches Lebensmittel eingesetzt werden kann. Die Herstellung von funktionellen Eiweißhydrolysaten wird dort nicht beschrieben.

In der DE-OS 2 745 954 wird ein Verfahren zur Herstellung von funktionellem Protein beschrieben, bei dem ungereinigtes natürliches Protein unterschiedlichen Ursprungs in wässrigem Medium bis zur Proteinfällung erhitzt und das ausgefällte und abgetrennte Protein dann mit proteolytischen Enzymen behandelt wird. Das erhaltene Eiweißhydrolysat soll keinen bitteren Geschmack aufweisen und sich vor allem durch eine gute Wasserlöslichkeit und Wärmestabilität über einen weiten pH-Bereich auszeichnen. Soweit mikrobielle Proteine eingesetzt werden, werden als Ausgangsprodukte lediglich Hefen, jedoch keine Bakterien genannt. Den gewonnenen Eiweißprodukten werden zwar generell funktionelle Eigenschaften zugeschrieben, diese Eigenschaften aber nicht genauer charakterisiert und auch nicht dargelegt, welche Anwendungsmöglichkeiten sich auf Grund spezieller funktioneller Eigenschaften ergeben.

244534 2 - 4 -

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung ernährungsphysiologisch hochwertiger und geschmacklich einwandfreier Eiweißhydrolysate, die auf Grund ihrer spezifischen lebensmitteltechnologischen Eigenschaften in der Lage sind, ganz spezielle Funktionen bei der Verarbeitung zu hochwertigen Nahrungsmitteln zu übernehmen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Eiweißhydrolysat mit den gewünschten Eigenschaften herzustellen auf der Grundlage von mikrobiellen Eiweißstoffen, wie sie z. B. nach dem Verfahren der DE-PS 2 633 451 oder anderen Verfahren zugänglich sind, in denen Mikroorganismen zur Proteinbildung eingesetzt werden.

Diese Aufgabe konnte erfindungsgemäß in seiner breitesten Ausgestaltung durch ein universell anwendbares, funktionelles Eiweißhydrolysat gelöst werden, das aus mikrobiellen Eiweißisolaten hergestellt ist und

- einen Proteingehalt von über 90 Gew.-%,
- einen Nucleinsäuregehalt unter 2 Gew.-%,
- einen Lipidgehalt unter 1 Gew.-%,
- eine Suspendierbarkeit von 80 bis 100 %,
- eine Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 4 bis 7,
- eine Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 10 bis 300 min,

244534 2 - 5 -

- eine Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 300 bis 500 ml Öl/g Protein und
- ein Molekulargewicht zwischen 125 000 und 100 Dalton

aufweist.

Die vorstehend genannte Kombination wichtiger lebensmitteltechnologischer Eigenschaften, unter denen insbesondere die gute Schäumbarkeit und Schaumstabilität bei gleichzeitig hoher Emulgierfähigkeit hervorzuheben sind, gibt dem Fachmann sofort einen ersten Hinweis auf mögliche Einsatzgebiete derartiger Eiweißhydrolysate. Immer dann, wenn Nahrungsmittel eine aufgelockerte Struktur haben sollen, gleichzeitig aber wasserlösliche und fettlösliche Bestandteile enthalten, wie es z. B. bei Desserts, Back- und Teigwaren und Imitationskäsen der Fall ist, wird durch den Zusatz der vorstehend genannten Eiweißhydrolysate nicht nur eine ernährungsphysiologische Verbesserung erreicht, sondern auch die technologische Verarbeitung der Nahrungsmittel erleichtert.

Es gibt jedoch viele lebensmitteltechnologische Problemstellungen, die mit einem derartigen universellen Eiweißhydrolysat nicht mehr gelöst werden können. So gibt es beispielsweise Einsatzgebiete, in denen an die Schäumbarkeit und Schaumstabilität noch wesentlich höhere Anforderungen gestellt werden, wobei jedoch eine gute Emulgierfähigkeit weniger verlangt wird. Hierbei ist z. B. an schaumige Zuckerwaren wie Baisers, schaumiges Speiseeis, Dessertspeisen und ähnliches zu denken. Demgegenüber stehen auf anderen Einsatzgebieten die Forderungen nach einer hohen Emulgierfähig-

244534 2 - 6 -

keit im Vordergrund. Hierbei sind z. B. bestimmte Wurstwaren, Käseprodukte, Konditoreiwaren, Cremes, aber auch Mayonnaise und Salatsaucen oder andere Fettzubereitungen zu erwähnen.

Diese Aufgaben konnten nun durch bestimmte Fraktionen des vorstehend genannten Eiweißhydrolysats gelöst werden.

Erfindungsgegenstand ist deshalb auch eine Fraktion des funktionellen Eiweißhydrolysats der oben beschriebenen Art, die sich bei sonst gleichen Eigenschaften von diesem darin unterscheidet, daß es

- eine Löslichkeit von 100 %,
- eine Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 9 bis 16,
- eine Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 20 bis 120 min,
- eine Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 30 bis 60 ml Öl/g Protein und
- ein Molekulargewicht zwischen 5000 und 100 Dalton

aufweist.

Bei dieser Eigenschaftskombination fällt neben der guten Löslichkeit vor allem die hervorragende Schäumbarkeit auf, während die Emulgierfähigkeit nicht stark ausgeprägt ist.

Ein anderes Eigenschaftsbild zeigt jedoch eine andere Fraktion des funktionellen Eiweißhydrolysats der oben beschriebenen Art, die bei sonst gleichen Eigenschaften sich dadurch auszeichnet, daß

244534 2 - 7 -

- eine Suspendierbarkeit von 70 bis 90 %,
- eine Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 1 bis 3,
- eine Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 2 bis 1000 min,
- eine Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 400 bis 800 ml Öl/g Protein und
- ein Molekulargewicht zwischen 125 000 und 5000 Dalton gefunden wird.

Diese Fraktion zeichnet sich also durch eine besonders hohe Emulgierfähigkeit aus.

Das vorstehend an erster Stelle genannte, universell einsetzbare funktionelle Eiweißhydrolysat wird dadurch gewonnen, daß ein mikrobieller Eiweißstoff, vorzugsweise aus Bakterien, insbesondere aus *Methylobacterium clara* ATCC 31 226 gewonnenes Protein, zunächst einer Extraktionsbehandlung zur Verminderung seines Nucleinsäure- und seines Lipidgehaltes unterworfen wird und anschließend durch die Einwirkung einer oder mehrerer Endoproteasen hydrolytisch abgebaut wird. Die für den Einsatz der erfindungsgemäßen funktionellen Eiweißisolate als Nahrungsmittel wesentliche Verminderung des Nucleinsäure- und Lipidgehaltes der Proteinmasse kann zwar nach einer Reihe verschiedener Verfahren durchgeführt werden, die in der Regel durch einen alkalischen Aufschluß des Zellmaterial gekennzeichnet sind. Allen diesen Verfahren ist jedoch die aus der DE-AS 2 633 666 be-

244534 2 - 8 -

kannte Verfahrensweise vorzuziehen, bei der das Zellmaterial zunächst mit einer weitgehend bis völlig wasserfreien Extraktionsmischung aus einem Alkohol wie Methanol und Ammoniak und anschließend mit Wasser behandelt wird. Diese Methode ist wesentlich schonender als alle anderen Verfahren, verhindert einen Abbau oder eine Schädigung des Proteins und führt schon nach einer sehr kurzen Einwirkungszeit zu einer fast vollständigen Entfernung der Lipide und der Nucleinsäuren.

Zu der so gewonnenen Proteinmasse wird zur Hydrolyse zweckmäßig zunächst steril gefiltertes Trinkwasser gegeben, bis ein Trockensubstanzgehalt zwischen 10 und 20 Gew.-% erreicht ist. Der pH-Wert der Suspension wird, zweckmäßig mit verdünnter NaOH, auf den für die Wirkung der zum Einsatz kommenden Protease optimalen pH-Wert eingestellt, der im allgemeinen zwischen 7,0 und 8,0 liegt. Zu der Suspension wird dann bei einer Temperatur zwischen 30 und 50 °C die Protease zugegeben, wobei das Gewichtsverhältnis Enzym/Substrat zwischen 1 : 500 und 1 : 1000 liegen soll.

Die zum Einsatz kommenden Enzyme sind Endoproteasen, deren pH-Optimum vorzugsweise im neutralen Bereich liegt. Zur Erzielung eines geschmacklich guten Eiweißhydrolysats, das frei von jedem bitteren Geschmack ist, haben sich vor allem die Proteasen Alkalase 0,6 L, Corolase S 50, Trypsin PTN 3,0 S und α -Chymotrypsin sowie Mischungen dieser Enzyme besonders bewährt.

Während der etwa 15 bis 240 min dauernden Proteolyse wird

244534 2 - 9 -

die Temperatur des Ansatzes konstant gehalten. Dabei verschiebt sich der pH-Wert der Suspension langsam in den sauren Bereich. Es ist deshalb erforderlich, durch ständige Nachdosierung von Alkali, insbesondere verdünnter Natronlauge, dafür zu sorgen, daß der pH-Wert erhalten bleibt, der für die Wirkung des Enzyms optimal ist.

Nach dem Ende der Inkubation wird der Ansatz zur Inaktivierung des Enzyms erhitzt, vorzugsweise etwa 5 min auf 80 °C. Das so erhaltene Hydrolysat kann direkt dem Trocknungsvorgang zugeführt oder durch Fraktionierung weiter zerlegt werden, um Eiweißhydrolysate mit hochspezifischen Eigenschaften zu erhalten. Die einfachste Möglichkeit zur Weiterbearbeitung des vorstehend beschriebenen Eiweißhydrolysats besteht darin, daß besonders hochmolekulare, nicht-suspendierbare Partikelchen mittels eines Separators abgetrennt werden. Das dann erhaltene Produkt hat dann zwar alle übrigen Eigenschaften des ursprünglichen Eiweißhydrolysates, zeichnet sich aber durch eine 100%ige Suspendierbarkeit aus. Im allgemeinen muß die durch den Separator gewonnene Dünnphe jedoch durch Fraktionierung noch weiter zerlegt werden.

Zur Auftrennung der Separatordünnphe eignet sich vor allem die Ultrafiltration, wobei ein Plattenfilter oder Hohlfasern mit einer Ausschlußgrenze von 80.000 bis 100.000 Dalton zur Anwendung kommen. Hierdurch wird eine Trennung in eine klarlösliche, niedermolekulare Fraktion, das Permeat, und in eine trübsuspendierbare, hochmolekulare Fraktion, das Retenat, erreicht. Das Permeat der Ultrafiltration ist ein

244534 2 - 10 -

klar wasserlösliches Peptidgemisch mit einer Molekulargewichtsverteilung zwischen 100 und 5000 Dalton. Es ist leicht verdaulich und eignet sich aus diesem Grund auch sehr gut sowohl zur Eiweißanreicherung flüssiger Nahrungsmittel als auch zur enteralen Ernährung frisch operierter Patienten. Besonders bemerkenswert bezüglich der funktionellen Eigenschaften dieser Fraktion ist aber, daß die schon im nicht-fraktionierten Eiweißhydrolysat vorhandenen Schäumungs- und Schaumstabilisierungseigenschaften in dieser niedermolekularen Fraktion konzentriert sind.

Dagegen stellt das Retenat der Ultrafiltration eine trübe Suspension dar, die nach Trocknung gut im Wasser suspendiert werden kann. Diese Fraktion zeigt sehr gute Emulsionsstabilisierungseigenschaften und kann deshalb als Emulgator in fettreichen Lebensmitteln Einsatz finden. Außerdem zeigt diese Fraktion ausgeprägte viskositätserhöhende Eigenschaften, die ihre Anwendung als Verdickungsmittel bei der Herstellung und Zubereitung von Lebensmitteln ermöglichen.

Eine besonders einfache Fraktionierung des durch Proteolyse erhaltenen Hydrolysats ist mit Hilfe eines Membranreaktors möglich. Hierbei ist es nämlich nicht mehr erforderlich, das Hydrolysat vor der Fraktionierung zu isolieren, sondern schon während der Hydrolyse wird die niedermolekulare Fraktion ständig abgetrennt, während die höhermolekularen Anteile als Retenat im Reaktor verbleiben.

244534 2 - 11 -

Ausführungsbeispiel

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Herstellung, Ausprüfung und Anwendung der erfindungsgemäßen Eiweißhydrolysate. Prozentangaben beziehen sich auf das Gewicht, sofern nichts anderes angegeben ist.

Als Proteinisolat wurde ein Produkt gemäß der DE-PS 2 633 451, Beispiel 2, eingesetzt.

Beispiel 1

100 g mikrobielles Proteinisolat, dessen Nucleinsäure- und Lipidgehalt nach dem Verfahren der DE-AS 2 633 666 vermindert worden sind, werden in 900 ml Wasser suspendiert und der pH-Wert durch Zugabe von 4 N NaOH auf 8,0 eingestellt. Die Suspension wird auf 45 °C vorinkubiert und mit 0,5 ml Alkalase 0.6 L versetzt und 15 min unter Rühren bei 45 °C inkubiert. Zur Inaktivierung des Enzyms wird der Ansatz 5 min auf 90 °C erhitzt, der pH-Wert auf 7,0 eingestellt und die Suspension getrocknet.

Beispiel 2

100 g mikrobielles Proteinisolat, dessen Nucleinsäure- und Fettgehalt nach dem Verfahren der DE-AS 2 633 666 vermindert worden sind, werden in 900 ml Wasser suspendiert und der pH-Wert durch Zugabe von 4 N NaOH auf 8,0 eingestellt. Die Suspension wird auf 45 °C vorinkubiert und mit 100 mg Trypsin PTN 3.0 S (Fa. Novo) versetzt und bei konstanten pH-Bedin-

244534 2

- 12 -

gungen 4 h unter Rühren bei 45 °C inkubiert. Zur Inaktivierung des Enzyms wird der Ansatz 5 min auf 80 °C erhitzt, der pH-Wert auf 7,0 eingestellt und die Suspension getrocknet.

Beispiel 3

Es wird wie im Beispiel 2 vorgegangen, jedoch die Proteolyse durch Zusatz von 150 mg Trypsin/Chymotrypsin 2/1S (Fa. Novo) durchgeführt, dann aber wie in Beispiel 2 weitergearbeitet.

Beispiel 4

Das in Beispiel 2 gewonnene Hydrolysat wird vor der Trocknung einer Ultrafiltration an einem Hollow-Fiber-Ultrafiltrationssystem mit Patronen einer Ausschlußgrenze von 100 000 Dalton (H1P 100) unterworfen. Retenat und Permeat werden getrennt gesammelt und getrocknet.

Beispiel 5

1 kg mikrobielles Proteinisolat, dessen Nukleinsäure- und Fettgehalt gemäß dem Verfahren der DE-AS 2 633 666 vermindert worden sind, werden in 9 l Wasser suspendiert und der pH-Wert durch Zugabe von 4 N NaOH auf 8,0 eingestellt. Die Suspension wird in einem Enzymreaktor auf 45 °C vorinkubiert und mit 1 g Trypsin PTN 3.0 S (Fa. Novo) versetzt und unter konstanten Temperatur- und pH-Bedingungen unter Rühren inkubiert. Nach 30 min Inkubationszeit wird eine externe Umwälzung des Inkubationsansatzes über ein Hollow-Fiber-Ultrafiltrationssystem mit Patronen der Ausschlußgrenze 5000 Dalton (H 10 P5) in Betrieb genommen, das Retenat dem Enzym-

244534 2 - 13 -

reaktor rückgeführt und das Flüssigkeitsvolumen mit Wasser korrigiert. Das Permeat wird gesammelt und getrocknet.

Nach Beendigung der Inkubationszeit wird das Enzym im Enzymreaktor durch Hitzebehandlung (5 min/80 °C) inaktiviert und das Retenat getrocknet.

Beispiel 6

Die nach den Beispielen 1 bis 5 gewonnenen mikrobiellen Proteinhydrolysate wurde auf ihre Löslichkeitseigenschaften geprüft:

100 ml einer 10-%-Suspension werden auf den gewünschten pH-Wert eingestellt (HCl/NaOH), kurz homogenisiert und in einem vorgewogenen Zentrifugenglas bei 1500 g zentrifugiert. Der Überstand wird abdekantiert und das Sediment bei 100 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Glas mit Rückstand wird ausgewogen und die Löslichkeit berechnet.

Produkte aus	Fraktion	Löslichkeit (%) bei pH		
		3,0	5,0	7,0
Beispiel 1	-	81	85	97
Beispiel 2	-	77	90	91
Beispiel 3	-	85	94	98
Beispiel 4	Permeat	100	100	100
	Retenat	71	68	90
Beispiel 5	Permeat	100	100	100
	Retenat	73	70	91

244534 2 - 14 -

Beispiel 7

Die nach den Beispielen 1 bis 5 gewonnenen Proteinhydrolysate wurden auf ihre Schäumungseigenschaften geprüft:

25 ml einer 5%-Suspension werden auf den gewünschten pH-Wert eingestellt (HCl/NaOH) und in einem 500 ml Meßzylinder mit einem Labor-Homogenisator ("Ultraturrax", Typ T 45) über 1 min verschäumt. Es wurden bestimmt:

Verschäumungszahl:Schaumvolumen (ml)Ausgangsvolumen (ml)

(in Anlehnung an: Lin, M. J. Y.; Humbert, E. S.: J. Food Sci. 39, 368 (1974)).

Schaumhalbwertszeit: Zeitspanne, bis 50 Vol.-% der Ausgangslösung wieder aus dem Schaum ausgetreten sind.

(in Anlehnung an: Satterlee, L. D.; Zachariah, N. Y.; Levin, E.: J. Food Sci. 38, 268 (1973)).

244534 2 - 15 -

AP A 23 J/244 534 2
61 539 11

Verschäumungszahl bei pH Halbwertszeit (min) bei pH

Produkte aus	Fraktion	3	4	5	6	7	8	3	4	5	6	7	8
Beisp. 1	-	4,0	4,2	4,6	4,3	4,2	3,9	48	115	17	15	14	10
Beisp. 2	-	4,5	5,5	5,8	6,0	6,2	4,5	300	210	150	40	20	15
Beisp. 3	-	5,0	5,6	7,0	6,5	6,0	5,4	300	95	43	31	24	18
Beisp. 4	Permeat	12,8	15,2	15,6	15,6	16,0	14,8	120	114	97	35	42	20
	Retenat	2,1	1,9	1,5	2,4	2,4	2,4	1000	1000	1000	1000	5	2
Beisp. 5	Permeat	11,9	14,8	15,2	15,8	15,3	14,5	123	118	105	37	40	23
	Retenat	2,4	2,1	1,9	3,0	2,9	2,4	1000	1000	1000	915	7	4

244534 2 - 16 -

Beispiel 8

Die nach den Beispielen 1 bis 5 gewonnenen Proteinhydrolysate wurden auf ihre Emulgierfähigkeit geprüft:

20 ml Produktlösung (10, 5, 1 bzw. 0,5 %) wurden auf den gewünschten pH-Wert eingestellt (HCl/NaOH) und mit 60 bis 80 ml Sonnenblumenöl mit Hilfe eines Labor-Homogenisators ("Ultraturrax", Typ 18-10) emulgiert. Die Bewertung der entstehenden Emulsion erfolgte in Anlehnung an Aoki, H.; Nagamori, N.: Nippon Shokulin Kogyo Gakkaishi 27 (11), 550 (1980) durch Bestimmung der Viskosität (Viskotester Haake VT 181).

Die Emulsionskapazität ist definiert als ml Öl/g Protein (Kinsella, J. E.: Critical Reviews in Food Science and Nutrition 4, 219 (1976):

Produkte aus	Fraktion	Emulsionskapazität ($\frac{\text{ml Öl}}{\text{g Protein}}$)	
		pH 5	pH 7
Beispiel 1	-	300	500
Beispiel 2	-	500	500
Beispiel 3	-	300	300
Beispiel 4	Permeat	60	60
	Retenat	800	600
Beispiel 5	Permeat	60	30
	Retenat	600	400

244534 2 - 17 -

Beispiel 9

Die Molekulargewichtsbestimmungen in den Produkten aus den Beispielen 1 bis 3 und den Retenaten aus Beispiel 4 und 5 erfolgen über Gelchromatographie an ^(R)Sephadex G 100 in einem 48 % Harnstoff und 0,1 % Natrium-laurylsulfat enthaltenden Ammoniumacetat-Puffer vom pH 7,4.

Produkt aus	Fraktion	Molekulargewicht
Beispiel 1	-	100 - 125 000 Dalton
Beispiel 2	-	100 - 125 000 Dalton
Beispiel 3	-	100 - 125 000 Dalton
Beispiel 4	Retenat	5000 - 125 000 Dalton
Beispiel 5	Retenat	5000 - 125 000 Dalton

Beispiel 10

Die Molekulargewichtsbestimmung der Permeate aus Beispiel 4 und 5 erfolgte über Gelchromatographie an SEPHADEX G 50 und G 25 in 0,01 M Na-Acetate Puffer pH 7,0. Die Permeate sind durch ein Molgewicht zwischen 100 und 5000 Dalton charakterisiert.

Beispiel 11

Von dem aus den Beispielen 4 und 5 gewonnenen Permeat der Membranfiltration wird eine 10 bis 15%-(g/g)-Lösung in Wasser hergestellt.

50 ml dieser Lösung werden mit einem Haushaltsmixer zu einer

244534 2 - 18 -

steifen Schaummasse verschlagen und portionsweise 100 g Puderzucker und 5 g Vanillezucker untergearbeitet. Die Schaummasse wird mit einer Sahnespritze geformt und 75 min bei 120 °C verbacken.

Die so erhaltenen Baisers zeichnen sich durch gleichmäßige feinporige Struktur und arttypischen Geschmack aus.

Beispiel 12

Von dem aus den Beispielen 4 und 5 gewonnenen Retenat der Membranfiltration wird eine 1 bis 2-%-(g/g)-Lösung in Wasser hergestellt.

15 ml dieser Lösung werden mit einem halben Teelöffel Salz, 1 Tropfen Essig und einem halben Teelöffel Senf verrührt und dann portionsweise insgesamt 125 ml Pflanzenöl unter starkem Rühren mit einem Haushaltsmixer eingearbeitet.

Die so gewonnene Salatmayonnaise ist eine völlig homogene Emulsion mit hoher Stabilität ohne nachteilige sensorische Eigenschaften.

244534 2 - 19 -

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung eines funktionellen Hydrolysats aus mikrobiellen Eiweißisolaten, das
 - einen Proteingehalt über 90 Gew.-%,
 - einen Nukleinsäuregehalt unter 2 Gew.-%,
 - einen Lipidgehalt unter 1 Gew.-%,
 - eine Suspendierbarkeit von 80 bis 100 %,
 - eine Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 4 bis 7,
 - eine Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 10 bis 300 min,
 - eine Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 300 bis 500 ml Öl/g Protein,
 - ein Molekulargewicht zwischen 125 000 und 100 Daltonaufweist, gekennzeichnet dadurch, daß ein mikrobieller Eiweißstoff einer Extraktionsbehandlung zur Verminderung seines Nukleinsäure- und seines Lipidgehaltes unterworfen und dann einer enzymatischen Hydrolyse durch eine oder mehrere Endoproteasen unterworfen und gegebenenfalls das Hydrolysat in Fraktionen aufgetrennt wird.
2. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß als Endoproteasen Trypsin allein oder im Gemisch mit anderen Endoproteasen eingesetzt wird.
3. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß zur zweistufigen Extraktionsbehandlung die Lösungsmittel Methanol/Ammoniak und Wasser eingesetzt werden.
4. Verfahren zur Herstellung von Fraktionen des Hydrolysats gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man das

244534 2 - 20 -

Hydrolysat durch Ultrafiltration auftrennt, wobei man als Permeat eine Fraktion erhält, die bei sonst gleichen Eigenschaften wie das dort genannte Hydrolysat

- eine Löslichkeit von 100 %,
- eine Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 9 bis 16,
- eine Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 20 bis 120 min,
- eine Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 30 bis 60 ml Öl/g Protein,
- ein Molekulargewicht zwischen 5000 und 100 000 Dalton, und als Retenat eine Fraktion, die bei sonst gleichen Eigenschaften wie das dort genannte Hydrolysat
- eine Suspendierbarkeit von 70 bis 90 %,
- eine Schäumbarkeit, charakterisiert durch eine Verschäumungszahl von 1 bis 3,
- eine Schaumstabilität, charakterisiert durch eine Halbwertszeit von 2 bis 1000 min,
- eine Emulgierfähigkeit, charakterisiert durch eine Emulsionskapazität von 400 bis 800 ml Öl/g Protein,
- ein Molekulargewicht zwischen 125 000 und 5000 Dalton aufweist.

5. Verfahren nach Punkt 4, gekennzeichnet dadurch, daß man das Hydrolysat ohne Isolierung mit Hilfe eines Membranreaktors fraktioniert.