

(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

3. Januar 2014 (03.01.2014)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2014/001103 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

A23L 1/302 (2006.01) A23C 21/02 (2006.01)

A23C 1/04 (2006.01) A23C 21/08 (2006.01)

A23C 3/00 (2006.01) A23C 21/10 (2006.01)

A23C 9/142 (2006.01) A23K 1/08 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2013/062376

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. Juni 2013 (14.06.2013)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
399668 26. Juni 2012 (26.06.2012) PL

(71) Anmelder: UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W
POZNANIU [PL/PL]; ul. Wojska Polskiego 28, PL-60-
637 Poznan (PL).

(72) Erfinder: GRAJEK, Włodzimierz; c/o UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY w POZNANIU, ul. Wojska Polskiego
28, PL-60-637 Poznan (PL). TROJANOWSKA,
Krystyna; c/o UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w
POZNANIU, ul. Wojska Polskiego 28, PL-60-637 Poznan
(PL). CZACZYK, Katarzyna; c/o UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY w POZNANIU, ul. Wojska Polskiego
28, PL-60-637 Poznan (PL).

(74) Anwalt: SANDMANN, Wolfgang; Friedrichstrasse 31,
80801 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, 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, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING A PROTEIN PREPARATION COMPRISING A HIGH VITAMIN B CONTENT

(54) Bezeichnung : METHODE ZUR HERSTELLUNG EINES EIWISSPRÄPARATS MIT HOHEM B-VITAMINGEHALT

(57) Abstract: The invention relates to a method or process for producing a protein preparation on the basis of sweet whey, said preparation containing a vitamin B complex and being used for foodstuffs and animal feed.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Methode bzw. Verfahren zur Herstellung eines Eiweißpräparats auf der Grundlage von Süßmolke mit B-Vitaminskomplexgehalt für Nahrungs- und Futtermittelzwecke.



WO 2014/001103 A1

Methode zur Herstellung eines Eiweißpräparats mit hohem B-Vitamingehalt

Die Erfindung betrifft eine Methode bzw. Verfahren zur Herstellung eines Eiweißpräparats auf der Grundlage von Süßmolke mit B-Vitaminkomplexgehalt für Nahrungs- und Futtermittelzwecke.

Molke ist der grundlegende Produktionsabfall der Milchindustrie. Sie enthält wertvolle Eiweiße, Lactose, Peptide, Aminosäuren, Vitamine und Mineralsalze. Unter den wertvollen Molkeeiweißen können aufgeführt werden: Albumine, darunter alpha-Lactalbumin, Globuline, darunter beta-Lactoglobulin und Immunglobuline, Lactoferrin mit hohem Eisengehalt, Caseinreste, Glykomakropeptide und Proteose-Peptide. Die Vitaminfraktion der Molke besteht aus dem B-Vitaminkomplex, A- und C-Vitaminen, die Mineralfraktion enthält Eisen-, Kupfer-, Zink-, Magnesium- und Natriumkationen. Mit Hinsicht auf den hohen Nährwert der Molke wird sie, insbesondere ihre Eiweißfraktion, allgemein für Ernährungszwecke genutzt. Molkeeiweiße werden zu Käse, Milchgetränken, Wurstwaren, Lebensmittelkonzentraten und zu vielen anderen Produkten hinzugegeben.

Mit Hinsicht auf die geringe Haltbarkeit wird die Molke getrocknet oder einer Verarbeitung unterzogen. Zu den Hauptrichtungen der Molkeverarbeitung gehört ihre Fraktionierung und die Trocknung der Eiweiß- und der Permeatfraktion. Die Eiweißfraktion wird auch zwecks Gewinnung von Hydrolysaten der Molkeeiweiße, die dann in der Lebensmittelherstellung verwendet werden, der Enzymhydrolyse unterzogen. Sowohl Molke wie auch ihre Permeatfraktion werden als Hauptbestandteile von Nährstoffen für die Züchtung von Mikroorganismen verschiedener Gattungen ebenfalls für biotechnologische Zwecke verwendet. In diesem Kontext können mikrobiologische Prozesse aufgeführt werden, deren Ziel in der Produktion von Bioethanol, Biobutanol, mikrobiologischem Eiweiß, Vitaminen der Gruppe B, organischer Säuren und vieler anderer Substanzen besteht. Einen Querschnitt der aktuell praktizierten Richtungen in der Molkeverarbeitung enthält das Buch „Mleczarstwo. Zagadnienia wybrane (Milchwirtschaft. Ausgewählte Probleme)“, Band 2, Herausgeber: Wydawnictwo ART, Olsztyn 1997, erschienen unter der Redaktion von Prof. Stefan Ziajka.

Die Nutzung der Molke zur B12-Vitaminbiosynthese und zur Herstellung von Eiweiß-Vitamin- und Eiweiß-Mineral-Konzentraten/-Präparaten begann im großen Ausmaß schon in den siebziger Jahren. Untersuchungen zu diesen Problemen erfolgten ebenfalls in Polen, besonders

in den Zentren Poznań und Olsztyn. In diesen Beschreibungen wurden die Art und Weise der Züchtung, die Zusammensetzung der Nährstoffe, die Art und die Menge der hinzugefügten B12-Vitaminvorläufer und die Methoden zur Nutzung der gewonnenen Produkte eingehend vorgestellt (Bullerman und Berry 1966, Reddy u. a. 1976).

5

Der Erfindungsgegenstand betrifft eine Produktionstechnologie für Eiweiß-Vitamin-Präparate, die eine mikrobiologische B12-Vitaminbiosynthese umfasst.

10

Bekannt sind eine Reihe technologischer Lösungen, in denen sowohl Bakterien wie auch Hefen verwendet wurden.

15

In der Lösung nach dem polnischen Patent PL 392014 wurde eine Methode zur Herstellung eines B12-Vitamin-Eiweiß-Konzentrats beschrieben, in der die pasteurisierte Molke der Fermentation bei Verwendung der Bakterien *Propionibacterium shermanii* 1 unterzogen wurde. Zur Molke wurden Wachstumsvorläufer in Gestalt von bestimmten Mengen Kobalt- und Eisensulfat sowie 5,6-Dimethylbenzimidazol als Stabilisator der B-Vitamine hinzugefügt. Nach Abschluss der Fermentation wird die Molke durch Membrane gefiltert und das Filtrat wird der Zerstäubungstrocknung bei einer Temperatur über 120 °C unterzogen.

20

In der Beschreibung nach dem US-Patent 4,544,633 wurde eine Methode zur B12-Vitaminproduktion durch Fermentation vorgestellt, die sich dadurch auszeichnet, dass der pH-Wert des Nährstoffs mithilfe von Alkalien in den Grenzen 5-7,5 geregelt wurde, der Nährstoff wurde in mehreren Portionen hinzugefügt, und für die Fermentation wurden die Bakterienstämme *Propionibacterium shermanii* NOC 11011 und NOC 11012 sowie P. freundenreichii NOC 11013 verwendet, die sich alle durch eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen Propionsäure auszeichnen.

25

30

In der Patentbeschreibung PL153781 B1 wurde die bekannte Methode zur Molkeverarbeitung beschrieben, in der sie der aeroben Fermentation mithilfe der Hefe *Candida curvata* unterzogen wurde. Im Verlauf der Fermentation wurde der Säuregrad des Nährstoffs so geändert, dass die pH-Werte des Nährstoffs am Anfang geringer und dann höher waren. Die gewonnene Zellbiomasse wurde separiert und der Plasmolyse unterzogen. Das so gewonnene Lysat wurde mit einem Molkeeiweißkoagulat oder mit Magermilch angereichert, homogenisiert und getrocknet. Futterhefe wurde ebenfalls bei einer anderen bekannten Lösung verwendet, die im

Patent PL 142648 B1 beschrieben wurde. Bei dieser Lösung wurde die Molke einer Ethanol-Fermentation unterzogen und die Hefe-Bakterien-Biomasse wurde durch Ethanol-Destillation abgetrennt.

- 5 Zur B12-Vitaminherstellung wurde ebenfalls Melasseabsud verwendet. Diese Lösung ist aus der Patentbeschreibung PL 140567 B2 bekannt, in der der Absud unter Verwendung der Bakterien *Propionibacterium* fermentiert, mit Stroh gemischt und getrocknet wurde. Das Produkt war für Futterzwecke bestimmt.
- 10 In der US-Patentbeschreibung 3,818,109 wurde eine Methode zur Umwandlung der festen Molkefraktion in Hefebiomasse dargestellt, die dafür bekannt ist, dass die feste Molkefraktion mit einem Zusatz von Lactose, Dextrin, Malz- und Hefeextrakt sowie Mineralsalzen mithilfe von Milchsäurebakterien und Hefe fermentiert wurde. Die Fermentation verlief in zwei Phasen. In der ersten anaeroben Phase verwandelten die Milchsäurebakterien die Lactose in
- 15 Milchsäure, in der zweiten aeroben Phase vermehrte sich die Hefe. Die gewonnene Biomasse hatte einen hohen Eiweiß- und Vitamingehalt. In der Patentbeschreibung nach dem amerikanischen Patent US 6,187,761 B1 wurde die Herstellung und die Nutzung eines Präparats mit hohem B12-Vitamingehalt vorgestellt. Nach dieser bekannten Lösung für die B12-Vitaminherstellung wurden Bakterien der Gattung *Propionibacterium* verwendet, die das
- 20 Vitamin in den Zellen synthetisierten, wonach - nach Beendigung des Fermentationsprozesses - die Bakterien zwecks Öffnung der Zellen und Freisetzung des B12-Vitamins desintegriert wurden. Dieser Produkttyp ist für Lebensmittel- und Kosmetikzwecke bestimmt.

- In der bekannten Lösung aus der Patentbeschreibung US 6,492,141 B1 wurde eine Methode zur
- 25 Durchführung der Fermentation mithilfe der Bakterien *Propionibacterium shermanii* i *P. freundenreichii* vorgestellt, die dadurch gekennzeichnet ist, dass die Fermentation in zwei Phasen unter anaeroben und aeroben Bedingungen, mit Beförderung der fermentierenden Nährstoffcharge in den nächsten Bioreaktor verlief.

- 30 In der Beschreibung nach dem amerikanischen Patent US 2009/0214695 A1 wurde eine Produktzusammenstellung zur Tierernährung vorgestellt, die aus Molke, fermentiert mithilfe der Bakterien *Propionibacterium*, bestand, die nach der Verfütterung die Anzahl der Bakterien *Bifidobacterium* im Verdauungskanal der Tiere erhöhte.

Bekannt ist ebenfalls der Prozess zur Herstellung eines fermentierten Molkepräparats, beschrieben im amerikanischen Patent US 2010/0136203 A1, bei dem die Molkeeiweiße sterilisiert wurden und dann einer mehr als zehnstündigen Fermentation unter Verwendung der Joghurtbakterienkulturen *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus bulgaricus* unterzogen wurden. Nach Abschluss der Fermentation wurde das Ganze gekühlt, homogenisiert und in flüssiger Form aufbewahrt. Eine ähnliche Molkeverarbeitungstechnologie wurde im Patent US 2011/0212222 A1 beschrieben. In diesem Prozess wurde die Molke erst sterilisiert, alkalisiert und dann der Milchsäurefermentation und der Wirkung des Enzyms Lactase unterzogen. Das Produkt hatte einen verbesserten Geruch und nahm eine natürliche Süße an.

Aus der Patentbeschreibung US 5,486,368 ist eine Methode zur Herstellung von Hefeprodukten auf der Basis von Molkepermeat bekannt. Für den Prozess werden vorzugsweise die Hefen *Kluyveromyces fragilis* und *Candida intermedia* eingesetzt. Im amerikanischen Patent US 6,878,534 wurde eine Methode zur B12-Vitaminherstellung durch ständige Fermentation mit den Bakterien *Propionibacterium acidipropionici* DSM 8250 beschrieben. In wissenschaftlichen Veröffentlichungen (Hugenschmidt S. u. a.; Journal of Biotechnology 150S (2010) S1-576 und Hugenschmidt S. u. a.; Process Biochemistry 46 (2011) 10-63-1070) wurde die Verwendung des Stamms *Propionibacterium freundenreichii* DF13, gezüchtet in Ko-Kultur mit dem *Lactobacillus plantarum* SM39, zur Herstellung der Säure der Folate und B12-Vitamine unter Nutzung von Molkepermeat, angereichert mit Hefeextrakt, beschrieben. Die Züchtung wurde zweistufig - anaerob und aerob - durchgeführt. Das Produkt wurde zur Verbesserung von Lebensmitteln mit natürlichen Vitaminen oder als Nahrungsergänzungsmittel genutzt. In der wissenschaftlichen Veröffentlichung Reddy CA u. a.; Appl. And Environmental Microbiology 32 (1976) 769-776 wurde die Spaltpilzgärung von Molke unter Verwendung der Bakterien *Lactobacillus bulgaricus* zur Herstellung von Eiweißkonzentrat mit 55% Roheiweiß beschrieben.

Das Ziel dieser Erfindung besteht in der Gewinnung eines mit B-Vitaminen angereicherten Produkts mit hohem Eiweißgehalt und erhöhter Verdaulichkeit bei gleichzeitiger Verringerung des Energieverbrauchs bei seiner Herstellung.

Die vorliegende Erfindung stellt eine Methode bzw. ein Verfahren zur Herstellung eines Eiweißpräparats mit hohem B-Vitamingehalt auf der Basis von Süßmolke bereit, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass Molke durch Ultrafiltration in eine Eiweiß- und eine

Lactosefraktion getrennt wird, wonach in der Lactosefraktion bei Anwesenheit von Vorläufern und Stimulatoren der B12-Vitaminsynthese und Nährstoff Propionibakterien gezüchtet werden, die zur B-Vitaminbiosynthese fähig sind, dann die Bakterien vom Nährstoff der Züchtung getrennt und mit der Eiweißfraktion zusammengeführt werden, wonach die
5 zusammengeführten Fraktionen homogenisiert und gemeinsam getrocknet werden.

In bestimmten Ausführungsformen der erfindungsgemäßen Methode wird für die Produktion des Präparats Kuh- oder Schafs- oder Ziegenmolke verwendet.

10 Weiterhin ist in bestimmten Ausführungsformen bevorzugt, dass für die Produktion des Präparats Molke verwendet wird, die Caseinreste enthält.

Zudem ist in bestimmten Ausführungsformen vorgesehen, dass die Eiweißfraktion (Retentat) sofort nach der Trennung im Ultrafiltrationsprozess direkt mit den Bakterien aus dem
15 vorherigen Fermentationsprozess zusammengeführt und zusammen mit den Bakterien getrocknet wird.

In bestimmten Ausführungsformen ist vorgesehen, dass die Eiweißfraktion (Retentat) nach der Trennung im Ultrafiltrationsprozess unter 10 °C, günstigerweise unter 4 °C gekühlt und bis
20 zum Abschluss der Propionsäurefermentation aufbewahrt und erst dann mit den Bakterienzellen zusammengeführt und mit ihnen gemeinsam getrocknet wird.

In bestimmten Ausführungsformen zeichnet sich die erfindungsgemäße Methode zudem dadurch aus, dass die Eiweißfraktion (Retentat) nach der Trennung im Ultrafiltrationsprozess
25 gekühlt, bis zum Abschluss der Propionsäurefermentation aufbewahrt und vor der Zusammenführung mit den Bakterien einer thermischen Pasteurisierung unter Temperaturen von 65-95 °C mit einer Dauer von 10 - 60 min unterzogen wird.

Darüber hinaus ist in bestimmten Ausführungsformen vorgesehen, dass für die Fermentation
30 des Molkepermeats der herausselektierte Propionibakterienstamm *Propionibacterium freundenreichii* KT021 verwendet wird.

In bestimmten Ausführungsformen kann weiterhin vorgesehen sein, dass das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit organischen Zusätzen und

Vorläufern der B12-Vitaminsynthese sowie Stimulatoren des Bakterienwachstums in der Gesamtmenge von 20 mg/l bis 100 g/l angereichert wird.

Das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, kann in bestimmten Ausführungsformen mit Monosachariden oder/und Disacchariden oder/und Säurehydrolysaten oder enzymatischen Hydrolysaten pflanzlicher Polysacharide, günstigerweise Stärke oder Zellulose, angereichert werden.

In bestimmten Ausführungsformen kann das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit Glycerin, Erythrit, Mannitol oder Sorbitol angereichert werden.

In bestimmten Ausführungsformen kann das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit Milchsäure oder Lactaten angereichert werden.

Weiterhin kann es in bestimmten Ausführungsformen vorgesehen sein, dass das Permeat mit einer Bakterienzellsuspension in einer Menge geimpft wird, dass ihre Anfangskonzentration im Permeat über 10^5 cfu/ml, günstigerweise nicht weniger als 10^6 cfu/ml beträgt.

Die erste Prozessphase der Propionibakterienzüchtung kann in bestimmten Ausführungsformen unter anaeroben oder mikroaeroben Bedingungen geführt werden.

Zudem kann das Permeat in bestimmten Ausführungsformen während der Propionibakterienzüchtung mit einem mechanischen Mischer oder hydraulisch mit einer Durchflussgeschwindigkeit gemischt werden, die eine gleichmäßige Suspension der Zellen im gesamten Nährstoffvolumen gewährleistet.

Zur Trennung der Bakterienzellen kann in bestimmten Ausführungsformen die Cross-Flow-Mikrofiltrationsmethode unter Verwendung von Membranen mit einer Porosität von 0,1-0,5 μm eingesetzt werden.

Vor der Trocknung kann die Molkefraktion in bestimmten Ausführungsformen mit der Biomasse der Bakterienzellen gemischt werden.

In bestimmten Ausführungsformen kann zudem vorgesehen sein, dass die Eiweiß-Bakterien-Mischung bei der Produktion des Eiweiß-Vitamin-Präparats mit Gehalt an toten Bakterien während der Trocknung eine Temperatur über 60 °C, günstigerweise über 80 °C, zwecks thermischer Inhibition der Bakterien erreicht.

5

Weiterhin kann in bestimmten Ausführungsformen vorgesehen sein, dass die Eiweiß-Bakterien-Mischung bei der Produktion des Eiweiß-Vitamin-Präparats mit Gehalt an lebenden getrockneten Bakterien während der Trocknung eine Temperatur unter 60 °C, günstigerweise unter 40 °C, erreicht.

10

Das pulverisierte Eiweiß-Vitamin-Präparat kann in bestimmten Ausführungsformen in luft-, feuchte- und lichtundurchlässige Verpackungen verpackt werden.

In der Methode gemäß der Erfindung wird Süßmolke, günstigerweise Labmolke, in die Eiweißfraktion (Retentat) und die Lactose-Mineral-Fraktion (Permeat) auf dem Wege der bekannten Ultrafiltration getrennt, wobei Membranen mit einer Ausschlussgrenze von 5-20 kDa verwendet werden. Dann wird das Rohpermeat ohne zusätzliche Sterilisierung oder Pasteurisierung unter Verwendung der Bakterien *Propionibacterium freundenreichii* KT021 der Propionsäurefermentation unterzogen, wonach die gewonnene Biomasse mit der Mikrofiltrationsmethode vom fermentierten Präparat abgetrennt und mit der Eiweißfraktion (Molkeretentat) zusammengeführt wird. Das Ganze wird gemischt, der Homogenisierung unterzogen und dann mit der bekannten Methode der Zerstäubungstrocknung getrocknet. Das so gewonnene Produkt kann für die Ernährung von Menschen und für Futterzwecke genutzt werden. Für die Produktion des Präparats wird Süßmolke aus Milch verwendet, bei der Lab oder organische Säure für die Caseinfällung genutzt wurde. Besonders geeignet ist Molke, die möglichst viel Eiweiß und auch Molke, die ebenfalls Reste des ausgefällten Caseins enthält, z. B. Molke aus der Produktion von körnigem Quarkkäse (cottage cheese). Die verarbeitete Molke sollte mindestens 5% Trockenmasse, 0,5% Stickstoffverbindungen und 5% Lactose enthalten. Je größer der Anteil der aufgeführten Bestandteile ist, desto besser ist es.

30

Laut Erfindung wird die Molke erst gekühlt, am günstigsten auf eine Temperatur unter 10 °C und der Cross-Flow-Ultrafiltration durch eine Membran mit einer Ausschlussgrenze von 5 kDa oder größer - eine bekannte und allgemein verwendete Methode - unterzogen. Auf diese Art und Weise werden zwei Fraktionen gewonnen: das Retentat, enthält vor allem Eiweiße mit

einem Molekulargewicht über 5.000, und das Permeat, das vor allem Lactose, Eiweiße mit geringem Molekulargewicht, Peptide und Aminosäuren sowie Mineralsalze enthält. Das Retentat, das von der Eiweißfraktion der Molke gebildet wird, wird in einen Behälter geleitet und mit der Bakterienbiomasse gemischt, die im vorherigen Produktionszyklus als Ergebnis
5 des Fermentationsprozesses gewonnen wurde. Eine alternative Lösung kann die Leitung des Eiweißretentats in einen Behälter sein, der mit einer Kühlanlage ausgestattet wurde und die Aufrechterhaltung niedriger Temperaturen, günstigerweise unter 4 °C, bis zum Zeitpunkt der Zusammenführung mit dem durchfermentierten Permeat im Mischer erlaubt.

- 10 Dem Fermentationsprozesses wird nur die Permeatfraktion unterzogen, aus der die Eiweiße mit einem Molekulargewicht über 5-10 kDa entfernt wurden.

Nach der Separation wird das Molkepermeat in den Fermenter geleitet, wonach es auf die Fermentationstemperatur erwärmt und sein Säuregrad auf die normale Reaktion geregelt wird.

- 15 In den Bioreaktor wird eine Suspension von Propionibakterien eingeleitet. Das Permeat wird mit einer Suspension der Bakterienzellen mit einer Menge von mindestens 10^5 cfu/ml, günstiger sind jedoch 10^6 cfu/ml oder mehr, geimpft.

- Für die Fermentation wird der Bakterienstamm *Propionibacterium freundenreichii* subsp. *shermanii* KT021, aufbewahrt in der Polnischen Kollektion der Mikroorganismen (Polska Kolekcja Mikroorganizmów) am Institut für Immunologie und Experimentelle Therapie "Ludwik Hirszfeld" (Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Hirszfelda) in Wrocław – Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Weigla 12, 53-114 Wrocław, Polen – unter der Nummer B/00040 (hinterlegt am 23. Mai 2012)
20 verwendet. Dieser Stamm zeichnet sich durch gute Fermentationsleistung und Widerstandsfähigkeit gegen Propionsäure aus.

- Die Fermentation wird unter anaeroben oder mikroaeroben Bedingungen so durchgeführt, dass die Konzentration des gelösten Sauerstoffs 1 mg O₂/l nicht überschreitet. Nach 24-96 Stunden
30 Fermentation wird in die Molke ein Zusatz bekannter B12-Vitaminvorläufer, darunter Kobaltchlorid, 5,6-Dimethylbenzimidazol und para- Aminobenzoessäure eingebracht. Der Fermentationsprozesses wird bei Aufrechterhaltung der Bakterienzellen in der Zellsuspension über 5-7 Tage ausgeführt, was durch Mischung der Molke mit einer Geschwindigkeit über 10 U/min erzielt wird.

Nach Beendigung der Fermentation wird das gesamte fermentierte Permeat zwecks Separation der Zellbiomasse der Bakterien *Propionibacterium freundenreichii* KT021 der Mikrofiltration unterzogen, wobei Porositäten der Membran im Bereich von 0,1-0,5 µm verwendet werden.

- 5 Die abgetrennte Suspension der Bakterienzellen wird in den Mischer geleitet, in dem sie mit der Eiweißfraktion der Molke gemischt wird.

Anschließend wird das Ganze homogenisiert und zur Zerstäubungstrocknung geleitet. Der Trocknungsprozess wird bei einer Eingangslufttemperatur von ca. 150-180 °C und bei einer
10 Ausgangslufttemperatur von 75-100 °C durchgeführt. Das pulverisierte Eiweiß-Vitamin-Präparat wird in hermetischen Verpackungen verschlossen, die das Produkt vor Feuchte und Licht schützen.

Beispiel 1

- 15 Kuhsauermolke wurde der Cross-Flow-Ultrafiltration bei Verwendung einer Keramikmembran mit einer Ausschlussgrenze von 10 kDa unterzogen. Das Retentat mit der Eiweißfraktion wurde in einen thermostatierten Behälter gepumpt und mit Eiswasser auf eine Temperatur von 2° C gekühlt. Das Molkepermeat wurde in einen Fermentationsbottich gepumpt und seine Temperatur wurde auf 28 °C, der Säuregrad auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt. In den
20 Nährstoff wurde Hefeextrakt in der Menge von 1,6 g/l eingebracht, gut gemischt und das Ganze wurde mit den Bakterien *Propionibacterium freundenreichii* KT021 in der Menge von 5×10^6 cfu/ml geimpft. Die Fermentation wurde über 72 Stunden bei ständigem Mischen und unter Aufrechterhaltung eines konstanten pH-Werts ausgeführt, wonach in den Nährstoff Vorläufer und Stimulatoren der B12-Vitaminsynthese eingebracht wurden - 5 mg/l
25 Kobaltchlorid, 15 mg/l 5,6-Dimethylbenzimidazol und 10 mg/l para-Aminobenzoessäure - und die Fermentation über weitere 90 h fortgeführt wurde. Nach Beendigung der Fermentation wurden die Bakterien an einem Mikrofilter mit einer Porosität von 0,22 µm abgetrennt und in einen Mischbehälter befördert. In der Zwischenzeit wurde die Eiweißfraktion der Molke einer Pasteurisierung in der Temperatur von 90 °C über 20 min unterzogen und in den Mischbehälter
30 eingebracht. Nach dem Einschalten des Mixers wurde eine gleichmäßige, halbflüssige Masse gewonnen, die Molkeeiweiße, Propionibakterien und eine geringe Menge der flüssigen Molkefraktion enthielt. Diese Mischung enthielt ca. 18% Trockenmasse. Die Mischung wurde dann der Druckhomogenisierung unterzogen und zur Zerstäubungstrocknung geleitet. Die Zerstäubungstrocknung wurde bei einer Eingangslufttemperatur von 175 °C und bei einer

Ausgangslufttemperatur von 82 °C durchgeführt. Das gesammelte getrocknete Gut wurde in feuchte-, licht- und sauerstoffundurchlässigen Verpackungen verpackt.

Beispiel 2

- 5 Schafslabmolke wurde der Cross-Flow-Ultrafiltration bei Verwendung einer Flachmembran mit einer Ausschlussgrenze von 5 kDa unterzogen. Das Retentat mit der Eiweißfraktion wurde in einen Behälter mit Mischer gepumpt, in den dann die Bakterienbiomasse aus dem vorherigen Fermentationszyklus eingeleitet wurde. Die Mischung wurde zwecks Homogenisierung einem intensiven Mischungsprozess unterzogen. Beim Mischen wurden der Mischung allgemein
- 10 bekannte Zusätze für den Wärmeschutz hinzugefügt und das Ganze wurde zur Zerstäubungstrocknung geleitet. Die Eingangstemperatur der Trocknungsluft betrug ca. 180 °C, der Ausgangsluft 84 °C. Das gewonnene getrocknete Gut wurde in hermetischen Einzelverpackungen abgepackt.
- 15 In der gleichen Zeit wurde das als Ergebnis der Ultrafiltration der Molke gewonnene Molkepermeat in den Fermentationsbottich gepumpt und seine Temperatur wurde auf 30 °C, der Säuregrad auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt. In den Nährstoff wurden Vorläufer und Stimulatoren der B12-Vitaminsynthese - 10 mg/l Kobaltchlorid, 75 mg/l 5,6-Dimethylbenzimidazol und 10 mg/l para-Aminobenzoessäure - eingebracht, gut gemischt und
- 20 das Ganze wurde mit den Bakterien *Propionibacterium freundenreichii* KT021 in der Menge von $2,3 \times 10^6$ cfu/ml geimpft. Die Fermentation wurde bei ständigem Mischen und Aufrechterhaltung eines konstanten pH-Werts über 168 Stunden geführt. Nach Beendigung der Fermentation wurden die Bakterien an einem Mikrofilter mit einer Porosität von 0,45 µm abgetrennt und in einen Mischbehälter befördert, wo sie 30 min auf die Mischung mit der
- 25 Eiweißfraktion der nächsten Produktionscharge warteten.

Beispiel 3.

- Sauermolke wurde der Cross-Flow-Ultrafiltration bei Verwendung einer Spiralmembran mit einer Ausschlussgrenze von 15 kDa unterzogen. Das Retentat mit der Eiweißfraktion wurde in
- 30 einen Mischbehälter gepumpt, in dem es mit der Bakterienbiomasse aus dem vorherigen Fermentationszyklus gemischt wurde.

Parallel dazu wurde das Molkepermeat in einen Fermentationsbottich gepumpt und seine Temperatur wurde auf 32 °C, der Säuregrad auf einen pH-Wert von 7,2 eingestellt. Der

Nährstoff wurde mit Hefeextrakt in der Menge von 1,5 g/l, Stärkehydrolysat mit einem Glukosegehalt von 95% in der Menge von 20 g/l angereichert, gut gemischt und das Ganze wurde mit den Bakterien *Propionibacterium freundenreichii* KT021 in der Menge von $7,6 \times 10^6$ cfu/ml geimpft. Die Fermentation wurde über 150 Stunden bei ständigem Mischen und unter
5 Aufrechterhaltung eines konstanten pH-Werts ausgeführt, wobei nach den ersten 24 Stunden Fermentation in den Nährstoff Vorläufer und Stimulatoren der B12-Vitaminsynthese - 20 mg/l Kobaltchlorid, 20 mg/l 5,6-Dimethylbenzimidazol und 15 mg/l para-Aminobenzoesäure - eingebracht wurden. Nach Beendigung der Fermentation wurden die Bakterien durch Mikrofiltration an einer 0,22 µm Membran abgetrennt und die Zellbiomasse wurde in einen
10 Mischbehälter befördert.

In der Zwischenzeit wurde die Eiweißfraktion der Molke mit den Bakterien, die aus dem vorherigen Produktionszyklus gewonnen wurden, und mit 5% Maltodextrin gemischt, dann der Druckhomogenisierung unterzogen, wonach sie zur Zerstäubungstrocknung geleitet wurde. Die
15 Zerstäubungstrocknung wurde bei einer Eingangslufttemperatur von 160 °C und bei einer Ausgangslufttemperatur von 90 °C durchgeführt. Das gesammelte getrocknete Gut wurde in feuchte-, licht- und sauerstoffundurchlässigen Verpackungen verpackt.

Beispiel 4

20 Kuhlabmolke aus der Produktion von körnigem Quarkkäse mit Caseinresten wurde der Cross-Flow-Ultrafiltration unter Verwendung einer Membran aus Celluloseacetat und mit einer Ausschlussgrenze von 10 kDa unterzogen. Das Retentat mit der Eiweißfraktion wurde in einen thermostatierten Behälter gepumpt und mit Eiswasser auf eine Temperatur von 2° C gekühlt. Das Molkepermeat wurde in einen Fermentationsbottich gepumpt und seine Temperatur wurde
25 auf 28 °C, der Säuregrad auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt. In den Nährstoff wurden 30 g/l Lactose, 10 g/l Natriumlactat, 5 g/l Sorbitol, 2 g/l Hefeextrakt eingebracht, gut gemischt und das Ganze wurde mit den Bakterien *Propionibacterium freundenreichii* KT021 in der Menge von 5×10^6 cfu/ml geimpft. Die Fermentation wurde über 84 Stunden bei ständigem Mischen und unter Aufrechterhaltung eines konstanten pH-Werts ausgeführt, wonach in den Nährstoff
30 Vorläufer und Stimulatoren der B12-Vitaminsynthese eingebracht wurden - 5 mg/l Kobaltchlorid, 25 mg/l 5,6-Dimethylbenzimidazol und 12 mg/l para-Aminobenzoesäure - und die Fermentation über weitere 80 h fortgeführt wurde. Nach Beendigung der Fermentation wurden die Bakterien an einem Mikrofilter mit einer Porosität von 0,22 µm abgetrennt und in einen Mischbehälter befördert. In der Zwischenzeit wurde die Eiweißfraktion der Molke einer

Pasteurisierung in der Temperatur von 90 °C über 20 min unterzogen und in den Mischbehälter eingebracht. Nach dem Einschalten des Mixers wurde eine gleichmäßige, halbflüssige Masse gewonnen, die Molkeeiweiße, Propionibakterien und eine geringe Menge der flüssigen Molkefraktion enthielt. Die Mischung wurde dann der Druckhomogenisierung unterzogen und
5 zur Zerstäubungstrocknung geleitet. Die Zerstäubungstrocknung wurde bei einer Eingangslufttemperatur von 170 °C und bei einer Ausgangslufttemperatur von 95 °C durchgeführt. Das gesammelte getrocknete Gut wurde in einen hermetisch verschlossenen Mischer gegeben, wobei 1 g/kg Natriumascorbat und 2 g/kg Magnesiumsilikat hinzugefügt wurden. Das Ganze wurde sorgfältig gemischt, wonach das Pulver in licht- und
10 sauerstoffundurchlässige Verpackungen verpackt wurde.

Patentansprüche

1. Methode zur Herstellung eines Eiweißpräparats mit hohem B-Vitamingehalt auf der Basis von Süßmolke, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Molke durch Ultrafiltration in eine Eiweiß- und eine Lactosefraktion getrennt wird, wonach in der Lactosefraktion bei Anwesenheit von Vorläufern und Stimulatoren der B12-Vitaminsynthese Propionibakterien gezüchtet werden, die zur B-Vitaminbiosynthese fähig sind, dann die Bakterien vom Nährstoff der Züchtung getrennt und mit der Eiweißfraktion zusammengeführt werden, wonach die zusammengeführten Fraktionen homogenisiert und gemeinsam getrocknet werden.
2. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** für die Produktion des Präparats Kuh- oder Schafs- oder Ziegenmolke verwendet wird.
3. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** für die Produktion des Präparats Molke verwendet wird, die Caseinreste enthält.
4. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Eiweißfraktion (Retentat) sofort nach der Trennung im Ultrafiltrationsprozess direkt mit den Bakterien aus dem vorherigen Fermentationsprozess zusammengeführt und zusammen mit den Bakterien getrocknet wird.
5. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Eiweißfraktion (Retentat) nach der Trennung im Ultrafiltrationsprozess unter 10 °C, günstigerweise unter 4 °C gekühlt und bis zum Abschluss der Propionsäurefermentation aufbewahrt und erst dann mit den Bakterienzellen zusammengeführt und mit ihnen gemeinsam getrocknet wird.
6. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Eiweißfraktion (Retentat) nach der Trennung im Ultrafiltrationsprozess gekühlt, bis zum Abschluss der Propionsäurefermentation aufbewahrt und vor der Zusammenführung mit den Bakterien einer thermischen Pasteurisierung unter Temperaturen von 65-95 °C mit einer Dauer von 10 - 60 min unterzogen wird.
7. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** für die Fermentation des Molkepermeats der herausselektierte Propionibakterienstamm *Propionibacterium*

freundenreichii KT021 verwendet wird.

8. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit organischen Zusätzen und Vorläufern der B12-Vitaminsynthese sowie Stimulatoren des Bakterienwachstums in der Gesamtmenge von 20 mg/l bis 100 g/l angereichert wird.

9. Methode gemäß Patentanspruch 8, **gekennzeichnet dadurch, dass** das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit Monosachariden oder/und Disacchariden oder/und Säurehydrolysaten und/oder enzymatischen Hydrolysaten pflanzlicher Polysacharide, günstigerweise Stärke oder Zellulose, angereichert wird.

10. Methode gemäß Patentanspruch 8, **gekennzeichnet dadurch, dass** das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit Glycerin, Erythrit, Mannitol oder Sorbitol angereichert wird.

11. Methode gemäß Patentanspruch 8, **gekennzeichnet dadurch, dass** das Molkepermeat, welches für die Propionibakterienzüchtung verwendet wird, mit Milchsäure oder Lactaten angereichert wird.

12. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** das Permeat mit einer Bakterienzellsuspension in der Menge geimpft wird, dass ihre Anfangskonzentration im Permeat über 10^5 cfu/ml, günstigerweise nicht weniger als 10^6 cfu/ml beträgt.

13. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die erste Prozessphase der Propionibakterienzüchtung unter anaeroben oder mikroaeroben Bedingungen geführt wird.

14. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** das Permeat während der Propionibakterienzüchtung mit einem mechanischen Mischer oder hydraulisch mit einer Durchflussgeschwindigkeit gemischt wird, die eine gleichmäßige Suspension der Zellen im gesamten Nährstoffvolumen gewährleistet.

15. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** zur Trennung der Bakterienzellen die Cross-Flow-Mikrofiltrationsmethode unter Verwendung von Membranen

mit einer Porosität von 0,1-0,5 µm eingesetzt wird.

16. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Molkefraktion vor der Trocknung mit der Biomasse der Bakterienzellen gemischt wird.

5

17. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Eiweiß-Bakterien-Mischung bei der Produktion des Eiweiß-Vitamin-Präparats mit Gehalt an toten Bakterien während der Trocknung eine Temperatur über 60 °C, günstigerweise über 80 °C, zwecks thermischer Inhibition der Bakterien erreicht.

10

18. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** die Eiweiß-Bakterien-Mischung bei der Produktion des Eiweiß-Vitamin-Präparats mit Gehalt an lebenden getrockneten Bakterien während der Trocknung eine Temperatur unter 60 °C, günstigerweise unter 40 °C, erreicht.

15

19. Methode gemäß Patentanspruch 1, **gekennzeichnet dadurch, dass** das pulverisierte Eiweiß-Vitamin-Präparat in luft-, feuchte- und lichtundurchlässige Verpackungen verpackt wird.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/062376

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A23L1/302 A23C1/04 A23C3/00 A23C9/142 A23C21/02
A23C21/08 A23C21/10 A23K1/08

ADD.

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)

A23L A23C A23K

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 practicable, search terms used)

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SELINA HUGENSCHMIDT ET AL: "Concurrent high production of natural folate and vitamin B12 using a co-culture process with SM39 and DF13", PROCESS BIOCHEMISTRY, ELSEVIER, NL, vol. 46, no. 5, 18 January 2011 (2011-01-18), pages 1063-1070, XP028372433, ISSN: 1359-5113, DOI: 10.1016/J.PROCBIO.2011.01.021 [retrieved on 2011-01-25] abstract page 1064, left-hand column, paragraphs 3, 4 page 1064, right-hand column, paragraphs 1, 3, 4 page 1069, left-hand column, paragraph 3 ----- -/-	1-19



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 application or patent 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 September 2013

Date of mailing of the international search report

14/10/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stiegler, Petra

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/062376

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MARWAHA S S ET AL: "Influence of 5,6-dimethylbenzimidazole (DMB) on vitamin B12 biosynthesis by strains of Propionibacterium", ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, STONEHAM, MA, US, vol. 5, no. 5, 1 September 1983 (1983-09-01), pages 361-364, XP023678069, ISSN: 0141-0229, DOI: 10.1016/0141-0229(83)90008-X [retrieved on 1983-09-01] page 361, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column -----	1-19
Y	DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1978, GIEC A ET AL: "ULTRA FILTRATION OF WHEY FOR PROTEIN CONCENTRATES AND YEAST PROPIONIC-ACID BACTERIAL BIOMASS PRODUCTION", XP002713384, Database accession no. PREV197967066497 abstract & GIEC A ET AL: "ULTRA FILTRATION OF WHEY FOR PROTEIN CONCENTRATES AND YEAST PROPIONIC-ACID BACTERIAL BIOMASS PRODUCTION", ACTA ALIMENTARIA POLONICA, vol. 4, no. 3, 1978, pages 247-254, ISSN: 0137-1495 -----	1-19
Y	GB 2 170 984 A (VNII MOLOTSCHNOJ PROMY) 20 August 1986 (1986-08-20) abstract claims 1, 4; example 1 -----	1-19
Y	FR 1 409 748 A (CENTRE NAT RECH SCIENT) 3 September 1965 (1965-09-03) page 1, left-hand column, paragraph 1 - right-hand column, paragraph 5 claims 1-3; table IV -----	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/062376

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2170984	A	20-08-1986	FI 850451 A	05-08-1986
			FR 2577761 A1	29-08-1986
			GB 2170984 A	20-08-1986
			NL 8500400 A	01-09-1986
			SE 451291 B	28-09-1987
			SE 8500494 A	05-08-1986

FR 1409748	A	03-09-1965	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
INV.	A23L1/302 A23C21/08	A23C1/04 A23C21/10
	A23C3/00 A23K1/08	A23C9/142 A23C21/02
ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) A23L A23C A23K		
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, BIOSIS, EMBASE, FSTA, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	SELINA HUGENSCHMIDT ET AL: "Concurrent high production of natural folate and vitamin B12 using a co-culture process with SM39 and DF13", PROCESS BIOCHEMISTRY, ELSEVIER, NL, Bd. 46, Nr. 5, 18. Januar 2011 (2011-01-18), Seiten 1063-1070, XP028372433, ISSN: 1359-5113, DOI: 10.1016/J.PROCBIO.2011.01.021 [gefunden am 2011-01-25] Zusammenfassung Seite 1064, linke Spalte, Absätze 3, 4 Seite 1064, rechte Spalte, Absätze 1, 3, 4 Seite 1069, linke Spalte, Absatz 3 ----- -/-	1-19
☒ 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" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. 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 Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
24. September 2013		14/10/2013
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Stiegler, Petra

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	MARWAHA S S ET AL: "Influence of 5,6-dimethylbenzimidazole (DMB) on vitamin B12 biosynthesis by strains of Propionibacterium", ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, STONEHAM, MA, US, Bd. 5, Nr. 5, 1. September 1983 (1983-09-01), Seiten 361-364, XP023678069, ISSN: 0141-0229, DOI: 10.1016/0141-0229(83)90008-X [gefunden am 1983-09-01] Seite 361, linke Spalte, Absatz 2 - rechte Spalte	1-19
Y	----- DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1978, GIEC A ET AL: "ULTRA FILTRATION OF WHEY FOR PROTEIN CONCENTRATES AND YEAST PROPIONIC-ACID BACTERIAL BIOMASS PRODUCTION", XP002713384, Database accession no. PREV197967066497 Zusammenfassung & GIEC A ET AL: "ULTRA FILTRATION OF WHEY FOR PROTEIN CONCENTRATES AND YEAST PROPIONIC-ACID BACTERIAL BIOMASS PRODUCTION", ACTA ALIMENTARIA POLONICA, Bd. 4, Nr. 3, 1978, Seiten 247-254, ISSN: 0137-1495	1-19
Y	----- GB 2 170 984 A (VNII MOLOTSCHNOJ PROMY) 20. August 1986 (1986-08-20) Zusammenfassung Ansprüche 1, 4; Beispiel 1	1-19
Y	----- FR 1 409 748 A (CENTRE NAT RECH SCIENT) 3. September 1965 (1965-09-03) Seite 1, linke Spalte, Absatz 1 - rechte Spalte, Absatz 5 Ansprüche 1-3; Tabelle IV -----	1-19

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2013/062376

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
GB 2170984	A	20-08-1986	FI	850451 A	05-08-1986
			FR	2577761 A1	29-08-1986
			GB	2170984 A	20-08-1986
			NL	8500400 A	01-09-1986
			SE	451291 B	28-09-1987
			SE	8500494 A	05-08-1986

FR 1409748	A	03-09-1965	KEINE		
