

(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
6. Juli 2006 (06.07.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/069803 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
A23J 3/30 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/014183

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Dezember 2005 (23.12.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 063 258.8
23. Dezember 2004 (23.12.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): ANIMOX GMBH [DE/DE]; Volmerstrasse 7B,
12489 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HÖHLING, Axel
[DE/DE]; Wustrower Strasse 3, 13051 Berlin (DE).
SCHULTZE, Maria [DE/DE]; Berliner Strasse Siedlung
8, 15754 Heidesee OT Friedersdorf (DE). MOTHES,
Sigmar [DE/DE]; Moissistrasse 16, 12489 Berlin (DE).

(74) Anwälte: GULDE, Klaus, W. usw.; GULDE HENGEL-
HAUPT ZIEBIG & SCHNEIDER, Wallstrasse 58/59,
10179 Berlin (DE).

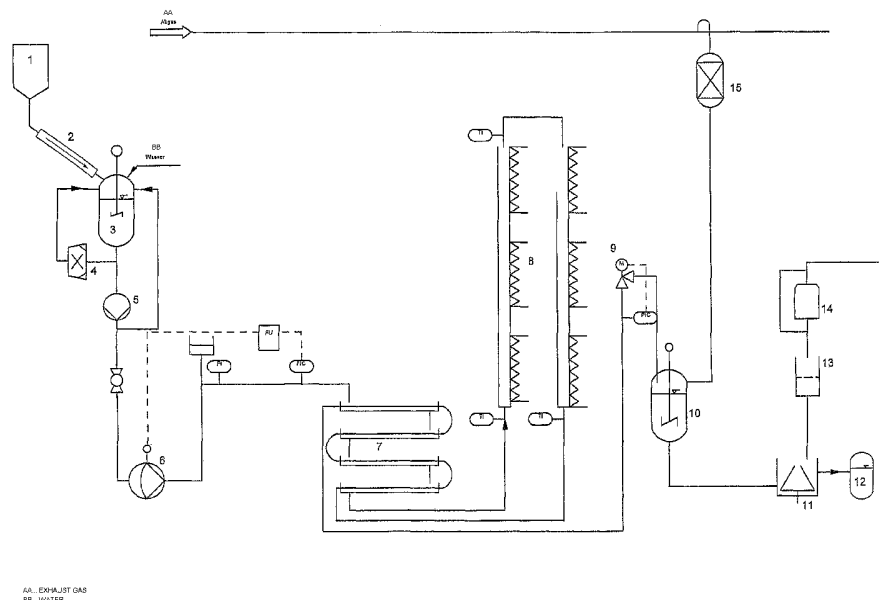
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC,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

(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,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING PROTEIN HYDROLYSATES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON PROTEINHYDROLYSATEN



(57) Abstract: The aim of the invention is to provide a method for producing protein hydrolysates that have defined molecular weight limits without carrying out enzymatic or pH-adjusting process steps. For this purpose, the method for producing protein hydrolysates from proteinaceous plant and animal materials is characterized by splitting the materials up in an aqueous medium under a targeted pressure build-up in a reaction chamber, the temperature and reaction being controlled by a characteristic curve of the system, and separating the suspension after splitting into a sediment containing the insoluble components of the starting material, and an aqueous supernatant in which the cleavage products of the materials are dissolved.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2006/069803 A1



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
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren anzubieten, mit dem es möglich ist, Proteinhydrolysate mit definierten Molekulargewichtsgrenzen ohne pH-Wert einstellende und ohne enzymatische Verfahrensschritte herzustellen. Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den Merkmalen des Anspruchs 1. Danach ist das Verfahren zur Herstellung von Proteinhydrolysaten aus proteinhaltigen pflanzlichen und tierischen Rohstoffen dadurch gekennzeichnet, dass die Rohstoffe im wässrigen Medium durch eine anhand einer Systemkennlinie gesteuerte Temperatur- und Reaktionszeiteinwirkung und unter gezieltem Druckaufbau in einem Reaktionsraum gespalten werden und dass die Suspension nach dem Spaltprozess in ein Sediment, das die unlöslichen Bestandteile des Ausgangsmaterials enthält, und einen wässrigen Überstand, in dem die Spaltprodukte der Rohstoffe gelöst sind, getrennt wird.

Verfahren zur Herstellung von Proteinhydrolysaten

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von Hydrolysaten aus proteinhaltigen pflanzlichen und tierischen Rohstoffen.

Proteinhaltige pflanzliche und tierische Natur- und Abprodukte können in vielfältiger Weise für eine stoffliche Verwertung aufbereitet werden. In der Regel ist es dafür notwendig, die Makromoleküle (Proteine) in Aminosäuren einerseits und Peptide, die aus mehreren Aminosäuren bestehen, andererseits aufzuspalten.

Bekannt ist die Protein-Hydrolyse, die durch Zusatz von Säuren oder Basen unter Temperatureinwirkung zu einem Aminosäuregemisch führt. Nach Aufspaltung des Proteins muss die Lösung neutralisiert werden. Allerdings wird bei der Säurehydrolyse die wichtige und wirtschaftlich interessante Aminosäure Tryptophan zerstört.

Die Proteinspaltung kann auch enzymatisch mit Hilfe von Proteasen mikrobiellen Ursprungs durchgeführt werden. Dabei werden sowohl Endopeptidasen, die Peptidketten in unterschiedliche Fragmente entsprechend ihrer Spaltungsspezifität zerlegen, als auch Exopeptidasen, die Aminosäuren liefern, eingesetzt. Methoden und Verfahren der pH-Wert-abhängigen und der enzymatischen Proteinhydrolyse werden u. a. in GB 846682, RU 2132142 und US 6221423 dargelegt.

Makromoleküle komplexer Materialien aus tierischen und pflanzlichen Abfällen, wie Kohlenhydrate, Fette und Proteine, können auch unter Einwirkung von erhöhtem Druck und erhöhter Temperatur gespalten werden. Die entstehenden Bruchstücke werden so einer mikrobiell gestützten energetischen Verwertung, z.B. der Methanbildung, zugänglich gemacht.

In US 6365047, ES 2162462T und DE 10117321 wird der Stand der Technik der Druck-Temperatur-Hydrolyse hinsichtlich der verfahrenstechnischen Lösungen dargestellt.

In DE 10113537 ist die Druck-Temperaturbehandlung für Tiermehl beschrieben. Vorwiegend unter dem Aspekt der Inaktivierung des BSE-Erregers von infiziertem Tiermehl und Fleischbrei wirken im basischen Milieu ein Druck von 2,5 bar und eine Temperatur von 150 °C mindestens 15 min auf die wässrige Tiermehlsuspension ein.

Nach EP 1406508 wird BSE-freies Tiermehl durch Totalhydrolyse des Proteins des Tiermehls zu Aminosäuren unter Zugabe von Säuren/Laugen und ggf. nachfolgender Behandlung mit Proteasen gespalten. Dem Spaltprozess muss sich eine Neutralisation anschließen.

All diese Verfahren sind jedoch nicht dazu geeignet, Hydrolysate in definierten Molekulargewichtsgrenzen herzustellen.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren anzubieten, mit dem es möglich ist, Proteinhydrolysate mit definierten Molekulargewichtsgrenzen ohne pH-Wert einstellende und ohne enzymatische Verfahrensschritte herzustellen.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den Merkmalen des Anspruches 1.

Danach ist das Verfahren zur Herstellung von Proteinhydrolysaten aus proteinhaltigen pflanzlichen und tierischen Rohstoffen dadurch gekennzeichnet, die Rohstoffe im wässrigen Medium durch eine anhand einer Systemkennlinie gesteuerte Temperatur- und Reaktionszeiteinwirkung und unter gezieltem Druckaufbau in einem Reaktionsraum gespalten werden und dass die Suspension

nach dem Spaltprozess in ein Sediment, das die unlöslichen Bestandteile des Ausgangsmaterials enthält, und einen wässrigen Überstand, in dem die Spaltprodukte der Rohstoffe gelöst sind, getrennt wird, wobei die Spaltprodukte Proteinhydrolysate wie Peptide und Aminosäuren sind.

Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen angegeben.

In einer Ausgestaltung der Erfindung ist das erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass die Spaltung vorzugsweise im Temperaturbereich von 140°C bis 250°C, bei einem Druck von 5 bar bis 220 bar und Reaktionszeiten bis 120 min durchgeführt wird. Hierbei werden gezielt Moleküle mit definierten unterschiedlichen Molekulargewichten in der Größenordnung von 10 - 50 kDa als Spaltprodukte erhalten.

In einer weiteren Ausgestaltung ist das erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass die Spaltung der Proteine vorzugsweise im Temperaturbereich zwischen 180 °C und 220 °C und mit einem Druck zwischen 50 und 75 bar und Reaktionszeiten von 25 bis 40 min durchgeführt wird. Vorteilhafterweise erhält man hier Proteinhydrolysate mit einem Molekulargewicht < 20 kDa.

In einer weiteren Ausgestaltung erfolgt die Spaltung in Rohrreaktoren kontinuierlich (Fig.1) oder nach dem Batch-Prinzip unter gleichzeitiger Vermeidung von Nebenprodukten.

In einer weiteren Ausgestaltung wird der Spaltprozess durch eine Analyse der Molekülgröße der Peptide im wässrigen Überstand kontrolliert.

In einer weiteren Ausgestaltung des Verfahrens wird der Spaltprozess durch laufende Ermittlungen (Analysen) der Molekülgröße der Peptide im wässrigen Überstand kontrolliert.

In einer weiteren Ausgestaltung ist vorgesehen, dass vor dem Eintrag in den Reaktor der Rohstoff mit Wasser durch eine Kolloid-Mühle mit bestimmter Spaltgröße und bestimmter Dauer, vorzugsweise 15 bis 60 min, zu einer förderfähigen Suspension verarbeitet wird. Vorteilhafterweise wird dadurch bereits ein Voraufschluss der Moleküle erreicht.

Eine weitere Ausgestaltung sieht vor, dass der Temperaturbereich der Spaltung zwischen 140°C und 250°C gewählt wird und ein gezielter Druck zwischen dem 1,1- und dem 10-fachen des Dampfdruckes der jeweiligen Temperatur eingestellt wird. Damit wird vorteilhafterweise ein einheitlich flüssiger Phasenzustand innerhalb des Systems sichergestellt. Durch den permanent flüssigen Zustand der Suspension ist deren kontinuierliche und störungsfreie Förderung gewährleistet.

In einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung wird die Spaltung bei einer Temperatur von $> 150^{\circ}\text{C}$ und einem Druck > 45 bar durchgeführt. Hierbei wird ein Spaltproduktprofil mit Aminosäuren und Peptiden < 20 kDa erhalten.

Eine weitere Ausgestaltung sieht vor, dass als Rohstoffe vorzugsweise durch Reinigungs- bzw. Extraktionsschritte vorbehandelte pflanzliche und tierische Materialien wie Weizenschrot oder Tiermehl zur Proteinspaltung eingesetzt werden.

Eine weitere Ausgestaltung sieht vor, dass der Rohstoff zur Einstellung einer bestimmten Korngröße, vorzugsweise < 2 mm, gesiebt wird.

In einer weiteren Ausgestaltung werden Konzentrationen von 5 bis 40% wässriger Maische direkt behandelt, oder nach Sedimentation der ungelösten Bestandteile wird lediglich der Überstand verarbeitet.

Eine weitere Ausgestaltung sieht vor, dass die Suspension mittels einer Pumpe im Kreislauf geführt wird. Insbesondere eignet sich eine Booster-Pumpe, um die Suspension im Kreislauf zu fördern. Die Prozesspumpe wird suspensionsgerecht angeschlossen.

In einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung ist vorgesehen, dass nach Entspannung des Reaktionsproduktes die festen von den wasserlöslichen Bestandteilen getrennt werden.

Die löslichen Spaltprodukte können in flüssiger oder getrockneter Form für chemische Verfahren eingesetzt werden. Sie eignen sich weiter dazu, als Nährmedien zur Kultivierung von Mikroorganismen eingesetzt zu werden.

Erfindungsgemäß wird durch die Parameter Temperatur, Druck und Reaktionszeit in einem Reaktor das Spaltungsmuster der Proteine festgelegt. Dabei liegt insbesondere der Druck beständig oberhalb des Dampfeigendrucks von Wasser, so dass die Einhaltung eines Einphasensystems im Reaktionsverlauf durchgängig gesichert wird.

Überraschenderweise wurde gefunden, dass durch die gesteuerte Druck-Temperatureinwirkung und die Reaktionszeit auch ohne pH-Veränderung und ohne Enzymzusatz ein definiertes Peptid-Aminosäuregemisch aus proteinhaltigen Rohstoffen gewonnen werden kann. Unter strikter Einhaltung von vorgegebenen Systemkennlinien (Fig. 2) wird mit dem erfindungsgemäßen Verfahren ein Material gewonnen, das als Grundstoff für biotechnologische und chemische Synthesen und Prozesse geeignet ist.

Über die Analyse der Molekülgrößen der Peptide und der mikrobiellen Verwertbarkeit der Spaltprodukte wird der Prozess kontrolliert. Durch die Verwendung von Schutzgas können unerwünschte Nebenreaktionen ausgeschlossen werden.

Die vorliegende Erfindung liefert ein Verfahren zur stofflichen Verwertung von Tiermehl, das variabel an die benötigten produktbezogenen Prozessbedingungen anpassungsfähig ist.

Das der Erfindung zugrunde liegende Verfahren ist geeignet, zugleich die Zerstörung des BSE-Erregers zu gewährleisten, wenn die Prozessführung erfinderisch so gestaltet wird, dass das Aminosäure-Peptid-Gemisch Molekulargewichte der Einzelkomponenten unter 20 kDa aufweist. Bekannt ist, dass das Molekulargewicht des BSE-Erregers 27 kDa bis 30 kDa beträgt (*Prusiner, St. B. (1996) TIBS 21, 482 - 487: Molecular biology and pathogenesis of prion diseases*).

Das Verfahren kann sowohl in kontinuierlich arbeitenden Rohrreaktoren als auch in Batch-Reaktoren ausgeführt werden. Rohrreaktoren bieten den großen Vorteil, dass das Reaktorvolumen jederzeit sich ändernden Qualitäten des Ausgangsmaterials angepasst werden kann.

Die Erfindung wird anhand von Figuren beispielhaft erläutert.

Es zeigen

- Fig. 1 eine schematische Darstellung des Verfahrensablaufes,
- Fig. 2 eine beispielhafte Darstellung von Systemkennlinien (Temperatur-Reaktionszeit) im kontinuierlichen Reaktor,
- Fig. 3 eine beispielhafte Darstellung der Abhängigkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens von Reaktionszeit und Temperatur

und

Fig. 4 eine Darstellung der Ausführungsbeispiele R1 bis R5.

In Fig. 1 ist beispielhaft der Ablauf des erfindungsgemäßen Verfahrens dargestellt.

Vor dem Eintrag der Rohstoffe in ein Silo 1 wird der Rohstoff gesiebt, um Fremdbestandteile und das Überkorn zu entfernen. Dann wird der Rohstoff durch eine an sich bekannte Austragsvorrichtung 2 aus dem Silo 1 ausgetragen und in einem Rührbehälter 3 mit Wasser gemischt und anschließend durch eine Kolloidmühle 4 mit definierter Spaltweite zerkleinert und suspendiert. Durch die Zerkleinerung in der Kolloidmühle 4 wird die Suspension homogenisiert, und durch den mechanischen Aufschluss der Biomasse wird eine bessere hydrothermale Spaltung der Proteine erreicht. Um ein Sedimentieren und Absetzen zu verhindern, wird die Suspension im Rührbehälter 3 gerührt. Nach dem Suspendieren saugt eine Boosterpumpe 5 handelsüblichen Typs die Suspension an und fördert diese im Kreislauf in den Rührbehälter 3 zurück. Der Behälter wird weiterhin gerührt.

Der Zustrom zu einer Prozesspumpe 6 erfolgt aus der Druckleitung der Booster-Pumpe 5. Durch die Prozesspumpe 6 wird anlagenseitig ein Druck von 5 - 220 bar, vorzugsweise 40 - 100 bar, eingestellt. Die Suspension gelangt dann zunächst in einen Wärmeübertrager 7, in dem sie durch das aus dem Reaktor 8 austretende Spaltprodukt im Gegenstrom erwärmt wird. Dabei wird die Suspension von ca. 20 °C auf 120 °C - 140 °C erwärmt. Das Spaltprodukt kühlt sich dabei von ca. 140 °C - 250 °C auf 30 °C - 60 °C ab.

Nach dem Wärmeübertrager 7 wird die Suspension in den Reaktor 8 geleitet. Der Reaktionsraum besteht aus mehreren Rohrreaktoren, die in Reihe geschaltet sind. Der Reaktor 8 wird von außen beheizt und die Suspension auf Temperaturen von 140 °C - 250 °C erwärmt. Nach dem Eintritt in den Reaktor 8 werden unter Druck- und Temperatureinfluss die Proteine aus dem Rohstoff zu Peptiden und Aminosäuren gespalten.

Durch statische Mischeinrichtungen im Wärmeübertrager 7 und/oder vor dem Reaktor 8 und/oder im Reaktor 8 besteht die Möglichkeit, eine Durchmischung des Stoffstromes vorzunehmen. Nachdem das Spaltprodukt den Reaktor 8 verlassen hat und im Wärmeübertrager 7 abgekühlt ist, wird es mittels eines Druckreduzierventils 9 auf Umgebungsbedingungen entspannt. Diese Entspannung kann einstufig und/oder zweistufig, vorzugsweise jedoch einstufig erfolgen. Die in einem Entspannungsbehälter 10 anfallenden Gase werden in einen externen Abgaswäscher 15 geleitet, um eventuell enthaltene Geruchsstoffe abzuscheiden. Das im Entspannungsbehälter 10 gesammelte Hydrolysat wird anschließend durch eine Zentrifuge/einen Dekanter 11 so weiterbehandelt, dass dabei das vorhandene Sediment abgetrennt wird. Das Sediment wird in einem Sammelbehälter 12 gesammelt. Nachfolgend wird die so gewonnene lösliche Phase (Überstand) durch eine Filtration 13, vorzugsweise eine Ultrafiltration, weiter aufgetrennt. Das daraus erhaltene Filtrat kann in einer Trocknung 14 getrocknet werden und so oder in flüssiger Form zum Einsatz kommen.

Fig. 2 zeigt Temperatur-Reaktionszeit-Kennlinien bei kontinuierlicher Durchführung des Verfahrens. Bei Einhaltung eines bestimmten Profils der Parameter Reaktionstemperatur und Reaktionszeit wird bei einem vorgegebenen Reaktionsdruck mit dem Temperatur-Druck-Hydrolyseverfahren ein definiertes durchschnittliches Molekulargewicht der Proteine erreicht. Als zusätzliche Einflussgrößen kommen Anlagenparameter und Trockensubstanzgehalt in der Suspension in Betracht. Zu erkennen ist ein deutlicher Einfluss von Reaktionszeit und Temperatur. Um gleiche Produkte zu erreichen, muss bei geringerer Reaktionszeit die Temperatur erhöht werden bzw. bei geringerer Temperatur längere Reaktionszeiten gewählt werden. Bei Verfahrensführung gemäß oberer Linie entstehen im Durchschnitt Moleküle mit einem Molekulargewicht von 10 kDa. Bei Verfahrensführung gemäß mittlerer Linie entstehen im Durchschnitt Moleküle mit einem

Molekulargewicht von 15 kDa und bei Verfahrensführung gemäß unterer Linie im Durchschnitt solche von 25 kDa.

Fig. 3 zeigt die Abhängigkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens (Proteinspaltung) von der Reaktionszeit und der Spaltungstemperatur. Zu erkennen sind folgende Abhängigkeiten:

1. Mit steigender Temperatur sinkt das durchschnittliche Peptid-Molekulargewicht. Somit wird mehr Protein gespalten und man erhält kleinere Proteinfragmente (Peptide und Aminosäuren).
2. Mit steigender Reaktionszeit sinkt das durchschnittliche Molekulargewicht bei gleicher Temperatur. Eine längere Reaktionszeit bewirkt demnach eine weitere Spaltung der Proteine in kleinere Fragmente.
3. Die Daten sind anlagenspezifisch bei bestimmten Druckeinstellungen aufgenommen worden. Veränderungen dieser Einflussgrößen bewirken abweichende Spaltungsergebnisse der Hochdruckhydrolyse.

In Fig. 4 sind die Ausführungsbeispiele R1, R2, R3, R4 und R5 dargestellt. Es werden unterschiedliche Verfahrensparameter (Druck, Temperatur, Reaktionszeit) dargestellt. Es wird beispielhaft belegt, dass durch spezifische Einstellung von Druck, Temperatur und Reaktionszeit in der Anlage verschiedene durchschnittliche Molekulargewichte erhalten werden.

Die Erfindung wird anhand weiterer Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Beispiel 1

Als Rohprodukt wird in Verarbeitungsbetrieben für Schlachtnebenprodukte hergestelltes Tiermehl eingesetzt. Das Tiermehl wird gesiebt, um Fremdbestandteile und Überkorn (> 2 mm) zu entfernen. In einem Rührbehälter 3 wird unter Rühren mit Hilfe

einer Kolloidmühle 4 eine 30%-ige Tiermehl-Wasser-Suspension hergestellt. Die Prozesspumpe 6 fördert die Suspension aus dem Vorlagebehälter und verdichtet diese auf einen Druck von > 50 bar (Ü). Die Temperatur im Reaktor 8 beträgt > 200°C, die Reaktionszeit 30 min und der Durchsatz 100 kg/h. Nach der Spaltung wird die Hydrolysat-Suspension einstufig vom Prozessdruck auf Umgebungsdruck entspannt.

Das gesammelte Hydrolysat wird anschließend durch Separation und Filtration vom Sediment getrennt. Nachfolgend wird eine Ultrafiltration 13 mit einem cut off von 20 kDa durchgeführt. Das Filtrat wird vorzugsweise in einem Sprühtrockner 14 getrocknet. Bei 300°C Zuluft- und 95°C Ablufttemperatur wird ein trockenes, rieselfähiges Pulver gewonnen.

Die Ausbeute an Trockenpulver beträgt 35 % bezogen auf die Trockensubstanz des Ausgangsmaterials. Die proteinogenen Verbindungen (Peptide, Aminosäuren) liegen bei 89 % der Trockensubstanz des Produktes. Die Gelchromatographie des Produktes zeigt, dass das durchschnittliche Molekulargewicht der Probe bei 7 kDa liegt.

Beispiel 2

Als Rohprodukt wird durch Verarbeitungsbetriebe für Schlachtnebenprodukte hergestelltes Tiermehl der Kategorie II eingesetzt. Es wird eine Maische aus 70 g Tiermehl in 350 ml Wasser hergestellt. Diese Maische wird in einem Batch-Reaktor vorgelegt. Unter Rühren wird eine Temperatur von 200 °C eingestellt. Unter Stickstoffatmosphäre wird ein Druck von 100 bar aufgebaut. Die Reaktionszeit beträgt 120 min.

Die Probe wird in der Zentrifuge 20 min bei 3.000 g separiert. Die unlöslichen Bestandteile (Sediment) werden abgetrennt und der Überstand als Reaktionsprodukt für die weitere Analytik verwendet. Das Produkt hat eine Ausbeute von 58 % bezogen auf

die Trockensubstanz des Ausgangsmaterials. Die proteinogenen Verbindungen liegen bei 81 % der Trockensubstanz des Produktes. Die Gelchromatographie des Produktes zeigt, dass 100 % der Probe ein Molekulargewicht < 20 kDa hat.

Beispiel 3

Als Rohprodukt wird durch Verarbeitungsbetriebe für Schlachtnebenprodukte hergestelltes Tiermehl der Kategorie III eingesetzt. Es wurde eine Maische aus 70 g Tiermehl in 350 ml Wasser hergestellt. Diese Maische wird in einem Batch-Reaktor vorgelegt. Unter Rühren wird eine Temperatur von 140 °C eingestellt. Unter Stickstoffatmosphäre wird ein Druck von 100 bar aufgebaut. Die Reaktionszeit beträgt 120 min.

Die Probe wird in der Zentrifuge 20 min bei 3.000 g separiert. Die unlöslichen Bestandteile (Sediment) werden abgetrennt und der Überstand als Reaktionsprodukt für die weitere Analytik verwendet. Das Produkt hat eine Ausbeute von 40 % bezogen auf die Trockensubstanz des Ausgangsmaterials. Der Anteil an proteinogenen Substanzen (Peptiden/Aminosäuren) des Produktes liegt bei 84 % der Trockensubstanz des Spaltproduktes. Die Gelchromatographie des Produktes zeigt, dass 56,2 % der Probe ein Molekulargewicht < 20 kDa hat.

Beispiel 4

Als Rohprodukt wird Weizenschrot eingesetzt. Es wird eine Maische aus 87,5 g Weizenschrot in 350 ml Wasser hergestellt. Diese Maische wird in einem Batch-Reaktor vorgelegt. Unter Rühren wird eine Temperatur von 180°C eingestellt. Unter Stickstoffatmosphäre wird ein Druck von 50 bar aufgebaut. Die Reaktionszeit beträgt 30 min.

Die Probe wird in der Zentrifuge 20 min bei 3.000 g separiert. Die unlöslichen Bestandteile (Sediment) werden abgetrennt und

der Überstand als Reaktionsprodukt mit einem 0,45 µm Filter filtriert und für die weitere Analytik verwendet. Das Produkt hat eine Ausbeute von 79,5 % bezogen auf die Trockensubstanz des Ausgangsmaterials. Der Anteil an proteinogenen Verbindungen liegt bei 6 % der Trockensubstanz des Spaltproduktes. Die Gelchromatographie des Produktes zeigt, dass 99,5 % der Probe ein Molekulargewicht < 20 kDa hat.

Die genannten Beispiele werden durch folgende Methoden analytisch begleitet und kontrolliert:

Bestimmung der Trockensubstanz zur Ermittlung der Produktausbeute

Das Trockengewicht umfasst die gelösten und ungelösten Inhaltsstoffe einer Probe, welche nach der Trocknung bei 103°C zurückbleiben. Die Trocknung erfolgt solange bis ein konstantes Gewicht erreicht ist. Zur Auswertung wird das Gewicht auf das eingesetzte Volumen bezogen.

Für die Bestimmung des Trockengewichtes wird das Standardverfahren nach DIN 38409 - H 1 - 1 eingesetzt. Das Trockengewicht wird sowohl von 20 ml Überstand als auch vom Sediment von 80 ml gespaltener Tiermehlsuspension ermittelt.

Bestimmung der proteinogenen Verbindungen

Anorganisch und organisch gebundener Stickstoff wird im alkalischen Milieu durch einen Aufschluss mit Peroxodisulfat zu Nitrat oxidiert. Die Nitrationen reagieren in schwefel- und phosphorsaurer Lösung mit 2,6 - Dimethylphenol zu einem Nitrophenol. Es wird analog DIN EN ISO 11905-1 mit einem Küvetten-test (Fa. Dr. Lange, LCK 338) gearbeitet. Aus dem Gesamtstickstoffgehalt kann nach Abzug der anorganischen Stickstofffraktionen die Menge an proteinogenen Verbindungen (Peptide, Aminosäuren) berechnet werden.

Gelchromatographie

Die Gelchromatographie ist ein Verfahren, bei dem mittels porösen Gelmaterials eine Trennung von Molekülen nach ihrer Größe erfolgt. Größere Moleküle werden zuerst eluiert, später die kleineren. Auf der Grundlage eines geeigneten Standards mit definierten Molekülgrößen ist die Molekülgrößenbestimmung durch Vergleich möglich. Die Gelchromatographie wurde auf einer Pharmacia-Anlage mit einer Säule (Durchmesser: 1,6 cm, Länge: 30 cm, Säulenvolumen: 60,3 ml) durchgeführt. Die Detektion der Proteine und Peptide erfolgt bei 280 nm. Als stationäre Phase wird Säulenmaterial Sephadex G - 100 (Trennbereich von 4 - 150 kDa) verwendet. Als mobile Phase wird PBS-Puffer genutzt. Zur Bestimmung der Molekülgrößen wird als Markersubstanz ein Gelchromatographie-Standard der Fa. Biorad verwendet.

Bestimmung des Mikroorganismenwachstums

Zur Überprüfung der mikrobiellen Verwertbarkeit der Proteinhydrolysate wird das Mikroorganismenwachstum mit der Probe als Nährsubstrat bestimmt. Von einer auf Nähragar befindlichen Mikroorganismenkultur wird eine einzelne Kolonie in einen Schüttelkolben mit Nährlösung angeimpft und unter entsprechenden Bedingungen 18 h kultiviert. Als Hauptkultur wird 100 ml Medium in einem 500 ml Schüttelkolben verwendet. Die einzelnen Medien werden mit je 1% der Vorkultur angeimpft. Bei entsprechender Temperatur und Belüftung (Schüttler) werden diese Hauptkulturen kultiviert. Der Verlauf der Wachstumskurve wird durch Bestimmung der Trübung im Photometer und durch die Bestimmung der Lebendkeimzahl im Stundentakt aufgenommen und anschließend ausgewertet.

Bestimmung der Keimzahl durch Trübungsmessung

Die Bestimmung der Keimzahl durch Trübungsmessung im Photometer ist eine Methode zur indirekten Bestimmung der Keimzahl einer Mikroorganismensuspension. Bei der Messung einer Probe im Photometer wird sichtbares Licht einer bestimmten Wellen-

länge (600 nm) zum Teil absorbiert und zum Teil gestreut und kann als optische Dichte (OD) auf der Photometerskala abgelesen werden. Die optische Dichte nimmt proportional zur Keimzahl zu. Es ist eine Mindestkeimzahl von 5×10^6 KBE/ml für die Messung notwendig. Da die Messung der OD nur bis ca. 0,3 linear proportional zur Zellzahl ist, muss bei einer höheren OD die Probe verdünnt werden.

Bestimmung der Lebendkeimzahl mittels Spatelverfahren

Bei der Lebendkeimzahlbestimmung werden die Zellen bestimmt, die in der Lage sind, eine Kolonie zu bilden. Das Ergebnis wird in „koloniebildenden Einheiten“ (KBE) angegeben. In Verdünnungen mit dem Faktor 1:10 wird von der Probe eine Verdünnungsreihe bis zur erwarteten Zellzahl (z.B. 10^8 Zellen/ml) hergestellt und die letzten drei Verdünnungen im Spatelverfahren ausplattiert. Die Platten werden 24 h bebrütet und die Zahl der Kolonien ausgezählt und auf KBE/ml berechnet.

Bezeichnung:

- | | |
|----|----------------------|
| 1 | Silo |
| 2 | Austragsvorrichtung |
| 3 | Rührbehälter |
| 4 | Kolloidmühle |
| 5 | Booster-Pumpe |
| 6 | Prozesspumpe |
| 7 | Wärmeübertrager |
| 8 | Reaktor |
| 9 | Druckreduzierventil |
| 10 | Entspannungsbehälter |
| 11 | Zentrifuge/Dekanter |
| 12 | Sammelbehälter |
| 13 | Filtration |
| 14 | Trocknung |
| 15 | Abgaswäscher |

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Proteinhydrolysaten aus proteinhaltigen pflanzlichen und tierischen Rohstoffen, dadurch gekennzeichnet, dass die Rohstoffe im wässrigen Medium durch eine anhand einer Systemkennlinie gesteuerte Temperatur- und Reaktionszeiteinwirkung und unter gezieltem Druckaufbau in einem Reaktionsraum gespalten werden und dass die Suspension nach dem Spaltprozess in ein Sediment, das die unlöslichen Bestandteile des Ausgangsmaterials enthält, und einen wässrigen Überstand, in dem die Spaltprodukte der Rohstoffe gelöst sind, getrennt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Spaltung vorzugsweise im Temperaturbereich von 140 °C bis 250 °C, bei einem Druck von 5 bar bis 220 bar und Reaktionszeiten bis 120 min durchgeführt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Spaltung der Proteinmoleküle vorzugsweise im Temperaturbereich zwischen 180 °C und 220 °C und mit einem Druck zwischen 50 und 75 bar und Reaktionszeiten von 25 bis 40 min durchgeführt wird.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Spaltung in Rohrreaktoren kontinuierlich oder nach dem Batch-Prinzip unter gleichzeitiger Vermeidung von Nebenprodukten erfolgt.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Spaltprozess durch laufende Ermittlungen (Analysen) der Molekülgröße der Peptide im wässrigen Überstand kontrolliert wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Eintrag in den Reaktor der Rohstoff mit Wasser (Maische) durch eine Kolloid-Mühle mit bestimmter Spaltgröße und bestimmter Dauer, vorzugsweise 15 bis 60 min zu einer förderfähigen Suspension verarbeitet wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Temperaturbereich der Spaltung zwischen 140 °C und 250 °C gewählt wird und ein gezielter Druck zwischen dem 1,1- und dem 10-fachen des Dampfdruckes der jeweiligen Temperatur eingestellt wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass als Rohstoffe vorzugsweise durch Reinigungs- bzw. Extraktionsschritte vorbehandelte pflanzliche und tierische Materialien wie Tiermehl zur Proteinspaltung eingesetzt werden.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Rohstoff zur Einstellung einer bestimmten Korngröße, vorzugsweise < 2 mm, gesiebt wird.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet, dass
Konzentrationen von 5 bis 40 % der Maische im wässrigen
und/oder nach Sedimentation der Maische der Überstand ver-
arbeitet werden.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Suspension im Kreislauf geführt wird.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
gekennzeichnet dadurch, dass
nach der Entspannung des Reaktionsproduktes die festen von
den wasserlöslichen Bestandteilen getrennt werden.
13. Verwendung des Verfahrens nach Anspruch 1,
gekennzeichnet dadurch, dass
das lösliche Spaltprodukt in flüssiger oder getrockneter
Form für chemische Verfahren eingesetzt wird.
14. Verwendung nach Anspruch 13,
gekennzeichnet dadurch, dass
das lösliche Spaltproduktgemisch in flüssiger oder getrock-
neter Form für Nährmedien zur Kultivierung von Mikroben
verwendet wird.

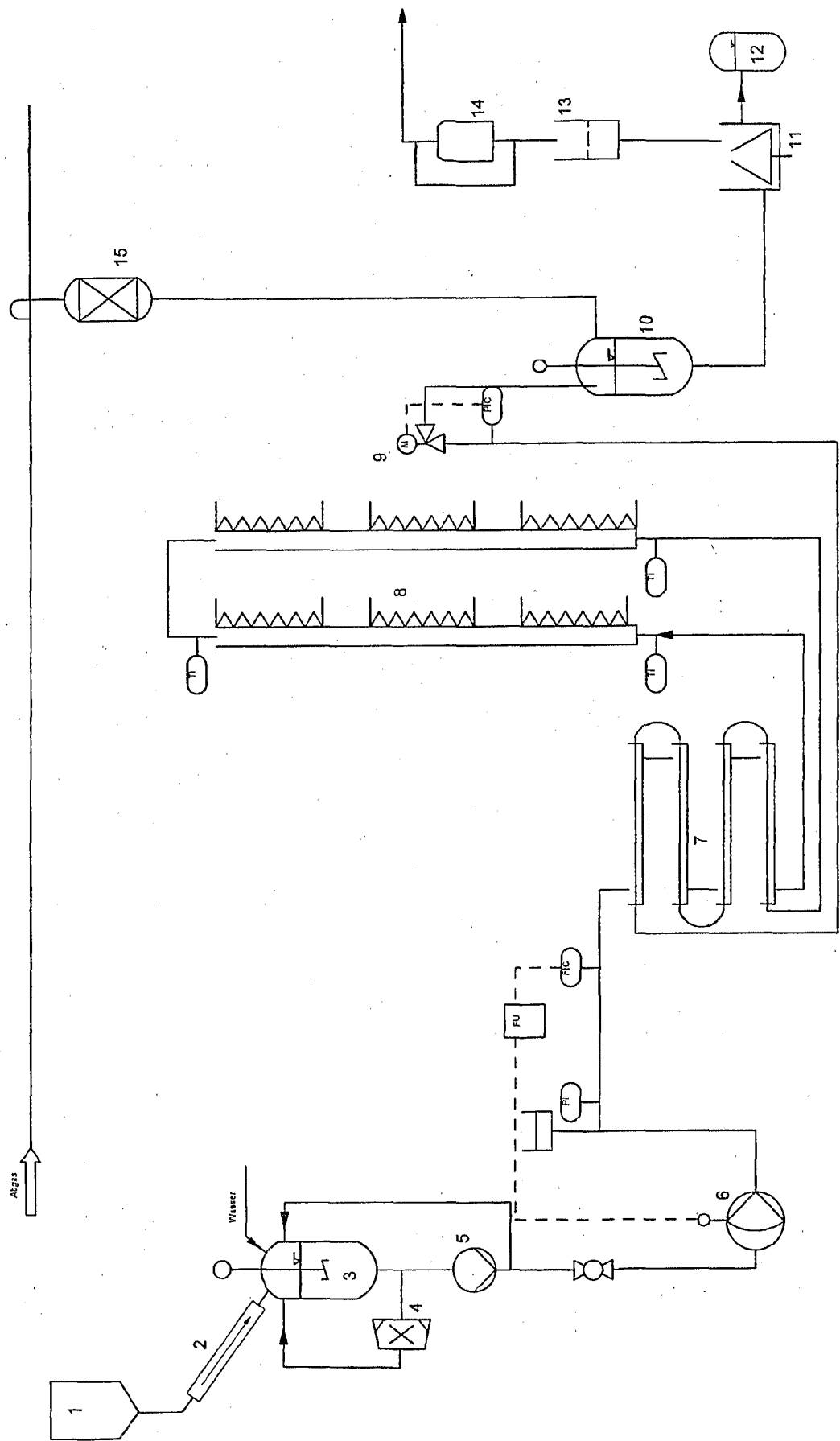


Fig. 1

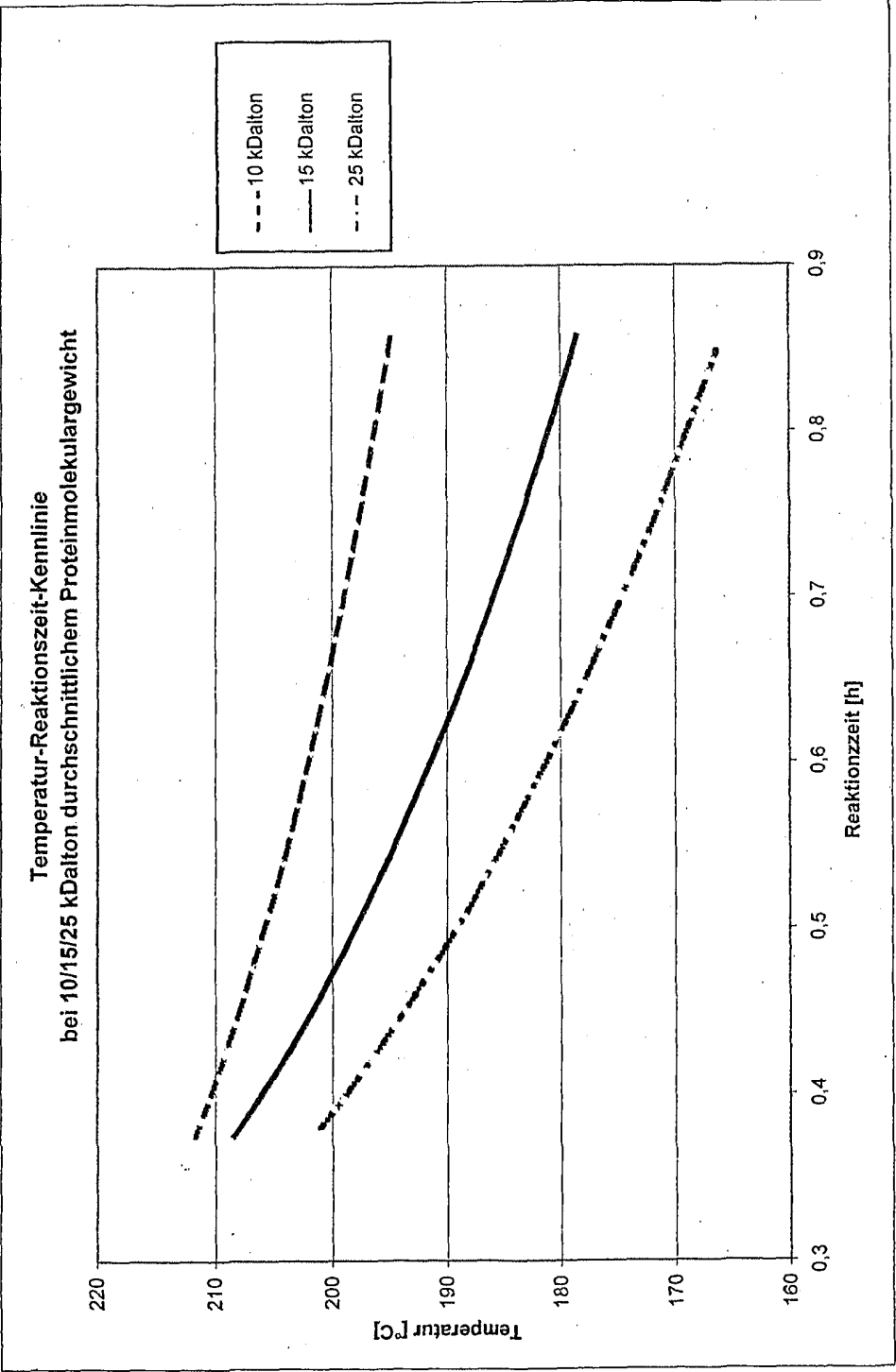


Fig. 2

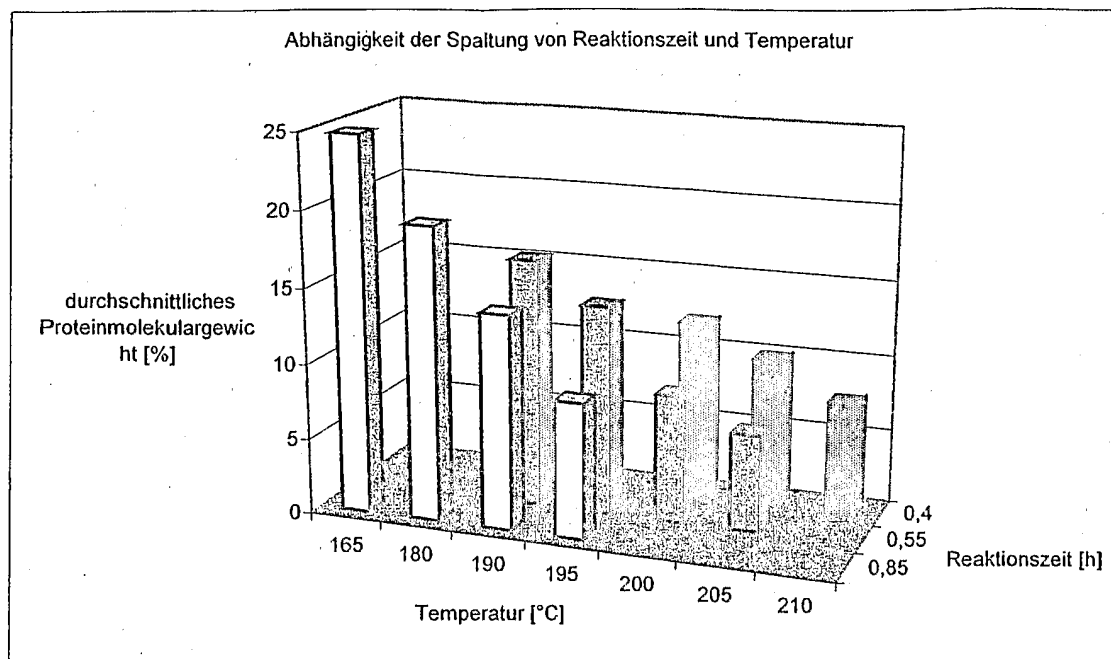
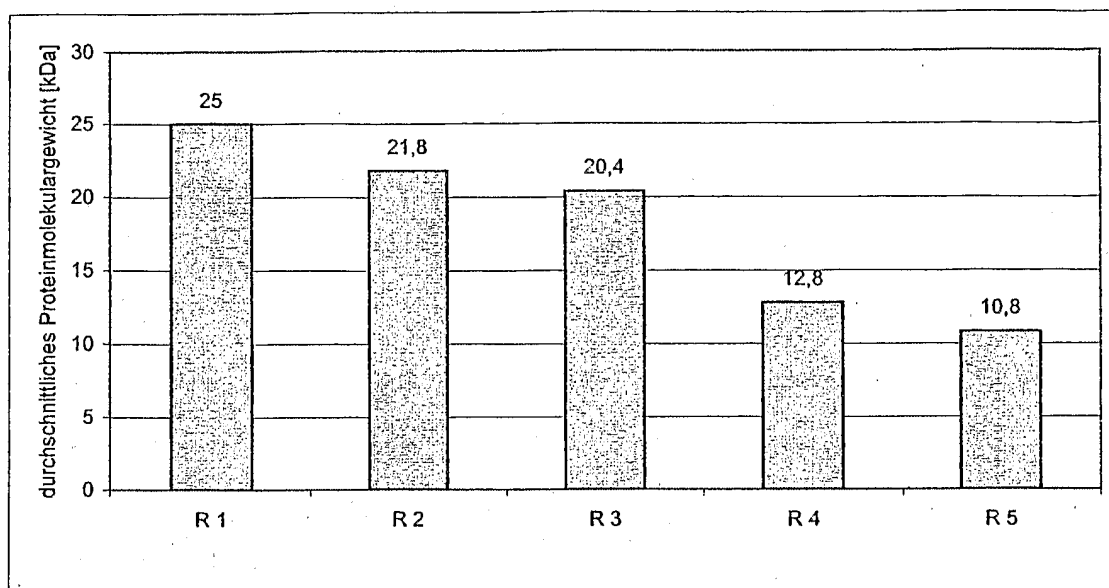


Fig. 3

4/4



Beispiel	Druck [bar]	Temperatur [°C]	Verweilzeit [h]
R 1	100	140	2
R 2	150	150	2
R 3	190	170	0,5
R 4	200	180	0,5
R 5	50	180	0,5

Fig. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2005/014183A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A23J3/30

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 312 611 A (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) 21 May 2003 (2003-05-21) page 2, paragraph 1 page 3, paragraph 14 -----	1-14
X	EP 1 193 223 A (ATZ-EVUS APPLIKATIONS- UND TECHNIKZENTRUM FUER ENERGIEVERFAHRENS-, UMW) 3 April 2002 (2002-04-03) cited in the application column 1, paragraph 6 column 2, paragraph 11 - column 3 column 4 - column 7; claims 1-20 & DE 101 13 537 A1 (SCHILP, REINHOLD) 26 September 2002 (2002-09-26) cited in the application ----- -/-	1-14

☒ 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.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 May 2006

Date of mailing of the international search report

24/05/2006

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Inceisa, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2005/014183

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 653 165 A (DAKA A.M.B.A) 17 May 1995 (1995-05-17) page 4, line 16 - line 39 -----	1-14
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 200134 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 2001-317284 XP002379430 & CN 1 283 397 A (UNIV SHANGHAI FIAOTONG) 14 February 2001 (2001-02-14) abstract -----	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2005/014183

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1312611	A	21-05-2003	WO 0216403 A1 JP 3624243 B2 JP 2002060376 A	28-02-2002 02-03-2005 26-02-2002
EP 1193223	A	03-04-2002	AT 266605 T ES 2221634 T3	15-05-2004 01-01-2005
DE 10113537	A1	26-09-2002	NONE	
EP 0653165	A	17-05-1995	DE 69418426 D1 DE 69418426 T2 DK 129593 A DK 0653165 T3 US 5574139 A	17-06-1999 16-12-1999 18-05-1995 08-11-1999 12-11-1996
CN 1283397	A	14-02-2001	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. A23J3/30

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A23J

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

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 1 312 611 A (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) 21. Mai 2003 (2003-05-21) Seite 2, Absatz 1 Seite 3, Absatz 14	1-14
X	EP 1 193 223 A (ATZ-EVUS APPLIKATIONS- UND TECHNIKZENTRUM FUER ENERGIEVERFAHRENS-, UMW) 3. April 2002 (2002-04-03) in der Anmeldung erwähnt Spalte 1, Absatz 6 Spalte 2, Absatz 11 - Spalte 3 Spalte 4 - Spalte 7; Ansprüche 1-20 & DE 101 13 537 A1 (SCHILP, REINHOLD) 26. September 2002 (2002-09-26) in der Anmeldung erwähnt ----- -/-	1-14

☒ 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
 - *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. Mai 2006

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

24/05/2006

 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

Inceisa, L

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 653 165 A (DAKA A.M.B.A) 17. Mai 1995 (1995-05-17) Seite 4, Zeile 16 - Zeile 39 -----	1-14
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 200134 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 2001-317284 XP002379430 & CN 1 283 397 A (UNIV SHANGHAI FIAOTONG) 14. Februar 2001 (2001-02-14) Zusammenfassung -----	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/014183

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 1312611	A	21-05-2003	WO	0216403 A1	28-02-2002
			JP	3624243 B2	02-03-2005
			JP	2002060376 A	26-02-2002
EP 1193223	A	03-04-2002	AT	266605 T	15-05-2004
			ES	2221634 T3	01-01-2005
DE 10113537	A1	26-09-2002	KEINE		
EP 0653165	A	17-05-1995	DE	69418426 D1	17-06-1999
			DE	69418426 T2	16-12-1999
			DK	129593 A	18-05-1995
			DK	0653165 T3	08-11-1999
			US	5574139 A	12-11-1996
CN 1283397	A	14-02-2001	KEINE		