



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 248 049 A1

4(51) A 23 J 1/14

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP A 23 J / 289 126 6	(22)	15.04.86	(44)	29.07.87
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Akademie der Wissenschaften der DDR, 1080 Berlin, Otto-Nuschke-Straße 22/23, DD
(72)	Schneider, Christoph, Dr. Dipl.-Chem.; Roethe, Klaus-Peter, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Rosahl, Bodo, Dipl.-Ing., DD

(54)	Verfahren zur Herstellung gereinigter Pflanzenproteine
------	--

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von gereinigten Samen-Proteinisolaten aus zerkleinerten pflanzlichen Rohstoffen, vorzugsweise aus Samen fettarmer Leguminosen. Die erfindungsgemäßen Produkte sind in hoher Ausbeute herstellbar und weisen ausgezeichnete funktionelle Eigenschaften auf. Sie bilden klare Gele, wirken als Schaumbildner und -stabilisatoren und weisen eine hohe Lagerstabilität auf und sind daher für spezielle Applikationszwecke in der Lebensmittelindustrie geeignet. Erfindungsgemäß werden die Proteine nach einer Extraktion im neutralen pH-Bereich, der Abtrennung des unlöslichen Rückstandes, isoelektrischer Fällung oder anderer Konzentrierungsverfahren und anschließender Trocknung einer Hochdruckextraktion unter Anwendung überkritischer Gase unterworfen. Danach wird die mit den extrahierten Stoffen beladene Phase abgetrennt und in ihre Komponenten zerlegt.

Erfindungsanspruch:

1. Verfahren zur Herstellung gereinigter Samen-Proteinisolate aus zerkleinerten pflanzlichen Rohstoffen, vorzugsweise entschalteten Samen lipidarmer Leguminosen durch Extraktion der Proteine im wäßrigen Medium im neutralen pH-Bereich, Abtrennung des unlöslichen Rückstandes, Gewinnung des Proteins durch isoelektrische Fällung oder andere Konzentrationsverfahren und Trocknung, **dadurch gekennzeichnet**, daß das getrocknete Protein einer Hochdruckextraktion unter Anwendung überkritischer Gase unterworfen, die mit den extrahierten Stoffen beladene Phase abgetrennt und in flüssige und gasförmige Anteile zerlegt wird.
2. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß zusätzlich zum überkritischen Gas gegebenenfalls eine Selektivkomponente oder ein Gemisch aus Selektivkomponenten, vorzugsweise Alkohole, Ketone und/oder Ester eingesetzt werden.
3. Verfahren nach Punkt 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß Gase mit einer kritischen Temperatur $\leq 330\text{ K}$, vorzugsweise CO_2 , verwendet werden.
4. Verfahren nach Punkt 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Arbeitsdruck bis zum 6fachen, vorzugsweise das 3- bis 4fache des kritischen Druckes des CO_2 beträgt und die Arbeitstemperatur zwischen 304 und 348 K, vorzugsweise zwischen 313 und 338 K liegt.
5. Verfahren nach Punkt 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Behandlungsdauer mit dem überkritischen Extraktionsmittel 1 bis 6 Stunden beträgt.
6. Verfahren nach Punkt 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Durchsatz des überkritischen Gases 3 bis 8 g CO_2 pro g Protein und Stunde beträgt.
7. Verfahren nach Punkt 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Durchsatz der Selektivkomponente 3 bis 12% des CO_2 -Durchsatzes beträgt.
8. Verfahren nach Punkt 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Restgehalt an Selektivkomponente im Extraktionsgut durch ausreichend langes Durchströmen mit Inertgas oder dem überkritischen Gas auf ein toxikologisch unbedenkliches Minimum abgesenkt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von gereinigten Proteinen aus proteinreichen oder proteinangereicherten pflanzlichen Rohstoffen, vorzugsweise aus zerkleinertem Samen fettarmer Leguminosen und deren Verarbeitungsprodukten, in Form qualitativ hochwertiger, d. h. bestimmter, besonders gute funktionelle Eigenschaften aufweisender Proteinisolate für die Humanernährung. Die gereinigten Proteinisolate sind in hoher Ausbeute einfach herstellbar und besitzen ausgezeichnete funktionelle Eigenschaften. Insbesondere bilden sie klare Gele, wirken als Schaumbildner und -stabilisatoren und weisen eine hohe Lagerstabilität auf. Sie sind daher für spezielle Applikationszwecke in der Lebensmittelindustrie prädestiniert.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es ist bekannt, pflanzliche Proteine, z. B. aus zerkleinerten Samen fettarmer Leguminosen, durch eine wäßrige Behandlung im neutralen oder schwach alkalischen Bereich zu extrahieren und nach Abtrennung unlöslicher Rückstände die Proteine aus dem Extrakt durch Einstellung des isoelektrischen pH-Wertes oder Verdünnung, auszufällen, abzutrennen und schließlich zu trocknen. Es ist auch bekannt, den Proteinextrakt durch Ultrafiltration zu konzentrieren, um die Fällungsreaktion zu umgehen.

Nachteilig dabei ist, daß sich bei diesen Verfahren die Lipide in den Proteinen anreichern, so daß z. B. ein Proteinisolat aus Ackerbohnsamen einen Lipidgehalt von ca. 5% aufweist. Eine solche Lipidanreicherung bringt eine Reihe von Problemen mit sich. Zum einen enthalten die Lipide von fettarmen Leguminosen überwiegend ungesättigte Fettsäuren, deren Neigung zur Autoxydation und damit zur sensorischen Veränderung in Richtung Ranzigkeit bekannt ist. Weiterhin ist nachteilig, daß Lipidgehalte von $\geq 1,5\%$ wäßrige Lösungen der Proteinisolate und auch die daraus durch thermische Verfestigung gebildeten Gele stark trüben. Schließlich sind lipidhaltige Proteinisolate schlechte Schaumbildner und -stabilisatoren.

Es ist nun bekannt, den Lipidgehalt von Proteinisolaten aus fettarmen Leguminosensamen dadurch zu senken, daß der Rohstoff, z. B. die Samenmehle, einer entfetteten Behandlung unterzogen wird. Diese Entfettung wird im allgemeinen durch eine Lösemittelextraktion bewirkt, wobei z. B. bei der Ackerbohne wegen des hohen Anteils polarer Lipide ein polares Lösemittel (z. B. Alkohole wie Ethanol, Isopropanol usw.) eingesetzt werden muß. Diese Extraktion hat folgende Nachteile:

- Es sind sehr große, überwiegend inerte Materialmengen zu behandeln.
- Es besteht die Gefahr einer Denaturierung der Proteinanteile durch die Lösemittelbehandlung.
- Sie ist bei Proteinisolaten nicht anwendbar, weil sich im Laufe der Herstellung so stabile Protein-Lipid-Komplexe bilden, daß mit Lösemittelextraktion keine Lipidabreicherung erreicht werden kann.

Nachteilig ist außerdem, daß bei einer Produktion von Proteinisolaten für unterschiedliche Anwendungszwecke bereits unterschiedliche Rohstoffe, d. h., mit und ohne Entfettung, eingesetzt werden müssen, wodurch die Herstellung komplizierter und teurer wird.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist daher die Entwicklung eines einfachen Verfahrens zur Herstellung gereinigter Proteine aus proteinhaltigen pflanzlichen Rohstoffen, vorzugsweise Samen fettarmer Leguminosen, in hohen Ausbeuten und mit guten funktionellen Eigenschaften, insbesondere der Bildung klarer Gele aus Lösungen, hoher Schaumbildung und -stabilisierung und guter Lagerfähigkeit.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß werden gereinigte Proteine aus pflanzlichen Rohstoffen so hergestellt, daß zerkleinerte pflanzliche Rohstoffe, vorzugsweise entschaltete Samen lipidarmer Leguminosen, in wäßrigem Medium im neutralen pH-Bereich (pH 6–8) extrahiert, der unlösliche Rückstand abgetrennt, das Protein aus dem Extrakt durch isoelektrische Fällung oder ein anderes Konzentrationsverfahren gewonnen und getrocknet wird. Das getrocknete Protein wird einer Hochdruckextraktion unter Anwendung überkritischer Gase unterworfen.

Das Feststoff-Flüssigkeits-Verhältnis bei der Extraktion beträgt 1:3 bis 1:12, vorzugsweise 1:4 bis 1:8.

Die Aufarbeitung des Proteinextraktes erfolgt zunächst auf bekannte Weise, d. h., der Extrakt wird vom unlöslichen Rückstand abgetrennt, das Protein entweder isoelektrisch ausgefällt und gewaschen oder auf andere Weise konzentriert und gereinigt (z. B. durch Ultra- und nachfolgende Diafiltration) und schließlich getrocknet.

Die erfindungsgemäße Verfahrensweise schließt sich daran an. Es wurde überraschend gefunden, daß bei dem durch Lösemittelextraktion nicht entfettbaren Protein durch Hochdruckextraktion mit Gasen mit einer kritischen Temperatur ≤ 330 K, vorzugsweise mit CO₂, im überkritischen Zustand eine deutliche Reduzierung des Lipidgehaltes erreicht werden kann. CO₂ ist physiologisch und toxikologisch unbedenklich sowie ausreichend verfügbar. Bei Benutzung von CO₂ als überkritischem Gas können besonders die thermische Belastung des Extraktionsgutes niedrig gehalten und die Abtrennung des Extraktes vom überkritischen Gas wirtschaftlich durchgeführt werden.

Zur Extraktion wird das zu behandelnde Protein in ein Druckgefäß gefüllt und mit 3–8 g CO₂ pro g Protein und Stunde beaufschlagt, das durch Temperatur- und Druckerhöhung in den überkritischen Zustand überführt wird. Der Arbeitsdruck kann bis zum 6fachen, vorzugsweise das 3- bis 4fache des kritischen Druckes des CO₂ betragen. Die Behandlungszeit beträgt 1 bis 6 Stunden.

Zur Vermeidung von Denaturierungserscheinungen an den Proteinen sollte die Extraktionstemperatur nicht mehr als 348 K, vorzugsweise 313 bis 338 K betragen.

Gegebenenfalls wird zur Selektivitätsverbesserung und Verdrängungswirkung von Feststoff dem CO₂ eine Selektivkomponente oder ein Gemisch von Selektivkomponenten zugegeben. Vorzugsweise wird das ausreichend verfügbare und/oder Ketone und/oder Ester Ethanol verwendet, wenn die erfindungsgemäß hergestellten Proteine für die menschliche Ernährung genutzt werden sollen. Durch die Wirkung der Selektivkomponente wird die Ökonomie des Verfahrens verbessert, weil die Extraktionszeit verkürzt und so der spezifische Durchsatz an Extraktionsmittel und der spezifische Energieaufwand gesenkt werden können. Der Durchsatz der Selektivkomponente beträgt 3–12% des CO₂-Durchsatzes. Ein etwaiger Restgehalt an Selektivkomponente im Extraktionsgut läßt sich durch ausreichend langes Durchströmen mit Inertgas oder dem überkritischen Gas auf ein toxikologisch unbedenkliches Minimum absenken.

Durch die Hochdruckextraktion mit überkritischen Gasen wird der Lipidgehalt z. B. bei Ackerbohnenproteinisolat von 5 bis 6% auf 0,6 bis 1,0% gesenkt. Dadurch resultieren Produkte, die für klare Gele und stabile Schäume eingesetzt werden können.

Die Erfindung wird anhand nachstehender Beispiele näher erläutert:

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Anwendung überkritischer Gase

In ein Druckrohr von 600 mm Länge und 12 mm Innendurchmesser werden 30 g Ackerbohnenproteinisolat mit einem Lipidgehalt von 5,4% gefüllt.

Beim Durchströmen von 5,6 g CO₂ pro g Isolat und Stunde, Druckerhöhung auf 25 MPa und Temperaturerhöhung auf 318 K werden diese Bedingungen 3 Stunden aufrechterhalten.

In dem so behandelten Ackerbohnenproteinisolat verringert sich der Lipidgehalt auf 0,8%.

Beispiel 2

Zum Vergleich ohne überkritisches Gas

In einem geschlossenen Rührgefäß werden 100 g Ackerbohnenproteinisolat mit einem Lipidgehalt von 5,4% mit 400 ml Isopropanol vermischt und die Aufschlämmung 30 min gerührt. Danach wird das Isopropanol durch Filtration abgetrennt und das Ackerbohnenproteinisolat an der Luft getrocknet.

Der Lipidgehalt des so behandelten Ackerbohnenproteinisolates betrug 5,3%.