



NORGE

[NO]

STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 134400

(51) Int. Cl.² A 23 J 1/14

(21) Patentsøknad nr. 146/70
(22) Inngitt 15.01.70
(23) Løpedag 15.01.70

(41) Alment tilgjengelig fra 18.08.70
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 28.06.76
(30) Prioritet begjært 17.02.69, USA, nr. 799960

(54) Oppfinnelsens benevnelse Fremgangsmåte for utvinning av protein.

(71)(73) Søker/Patenthaver GRAIN PROCESSING CORPORATION,
P.O. Box 341,
Muscatine, Iowa 52761,
USA.

(72) Oppfinner CARL THOMAS EGGER, Muscatine, Iowa,
ROBERT ERICK OLSON, Muscatine,
Iowa, USA.

(74) Fullmektig Siv.ing. Sigrun E. Græsbøll,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner US patent nr. 3303182 (260-123.5), 2631111 (127-69)
østerriksk patent nr. 248217 (53a 1/04)

134400

Denne oppfinnelse angår separering av protein fra proteinholdig kildemateriale.

For tiden er en effektiv utskillelse av protein fra forskjellige vegetabiliske og mikrobielle kilder av stor betydning.

Vanlig praksis for å skille protein fra et protein-kildemateriale, f.eks. soyabønner, har vært å neddykke kildematerialet i fra ca. 8 til 10 ganger så meget vann i tidsrom fra 30 til 120 minutter mens pH-verdien i det vandige system ble holdt mellom ca. 9 og 11 ved tilsetning av alkalier, f.eks. natriumhydroksyd eller kaliumhydroksyd. Ved slutten av neddykkingsperioden ble uløselig materiale utskilt ved sikting, filtrering eller sentrifugering og igjen utsatt for neddykking og utskilling. Denne fremgangsmåte utføres som en batch-operasjon og gjentas flere ganger. De vandige ekstrakter inneholdende oppløst materiale blir vanligvis oppbevart inntil alle ekstraksjoner er ferdige. Denne fremgangsmåte er ikke bare tidkrevende, men skaper også betingelser som tillater vekst av skadelige mikroorganismer. Derfor er det vanligvis ved slike fremgangsmåter nødvendig å utsette de vandige ekstrakter eller oppnådde produkter for en varmebehandling ved temperaturer over 100°C i et tidsrom av flere timer eller mer for å drepe mikroorganismene og, i tilfelle av soyabønner, å ødelegge eller inaktivere trypsin-inhibitorer. Etter varmebehandlingen kan de vandige ekstrakter behandles etter forskjellige metoder for å fremstille melkelignende produkter, proteinmel, konsentrater eller utfellinger. Denne kjente multi-

134400

ekstraksjonsmetode gir vanligvis mindre enn optimal utvinning av protein fra kildematerialet. F.eks. er i tilfelle av soyabønner utbyttet av protein vanligvis i området av fra bare ca. 55 til 66% med ytterligere protein i avfallsmaterialet. Videre omfatter flertrinnsekstraksjonsprosessen behandling av større volum av væske og er således tidkrevende og kostbar. Den nødvendige varmebehandling i relativt lange perioder er også ødeleggende ved at det oppnådde protein har tendens til å bli denaturert og oppviser lav grad av vannløselighet. En proteinutvinningsmetode som unngår de forskjellige ulemper ved flertrinnsekstraksjonsprosesser er således meget ønskelig, og det er hovedhensikten med oppfinnelsen å skaffe en slik forbedret fremgangsmåte.

En videre hensikt med oppfinnelsen er å skaffe en forbedret fremgangsmåte for å utvinne protein fra vegetabiliske eller mikrobielle kilder, hvilken fremgangsmåte kan utføres på i hovedsaken kontinuerlig måte med høyt proteinutbytte.

Et spesielt formål med oppfinnelsen er å skaffe en effektiv fremgangsmåte for å utskille protein fra soyabønner.

Oppfinnelsen tilveiebringer følgelig en fremgangsmåte for utvinning av hovedmengden av proteinet fra et proteinholdig kildemateriale, og den er karakterisert ved at det ved en annen pH-verdi enn proteinets isoelektriske pH-verdi lages en vandig oppslemming av proteinkildematerialet, oppslemmingen oppvarmes hurtig under trykk til, og holdes ved, en temperatur i området fra 121 til 177°C i mindre enn 6 minutter, den oppvarmede oppslemming flash-avkjøles under redusert trykk for oppnåelse av separasjon av damp derfra, og den avkjølte oppslemming som inneholder protein i løsning, oppsamles.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen omfatter følgende trinn:

1. det fremstilles en vandig oppslemming av et valgt proteinkildemateriale,
2. den vandige oppslemming utsettes for høye temperaturer under trykk,
3. den oppvarmede oppslemming blir så avkjølt under redusert trykk og
4. den avkjølte oppslemming kan så behandles etter

vanlige metoder for å oppnå et ønsket proteinprodukt.

I trinn 1 dannes en vandig oppslemming ved å blande en valgt proteinkilde med vann for å oppnå en god dispersjon. Proteinmaterialer kan være av vegetabilsk opprinnelse, f.eks. soyabønner eller andre oljefrø, alfalfa, gress, mais og lignende, eller det kan være av mikrobiell opprinnelse, slik som gjær, bakterier og sopp. Vanligvis er det tilstrekkelig med kraftig omrøring i perioder på ca. 10 minutter eller mindre. Oppslemmingen kan dannes kontinuerlig ved å innføre vann og proteinmaterialet i en blandetank og samtidig tappe ut oppslemmingen fra denne. Det maksimale tørrstoffinnholdet i oppslemmingen blir bestemt av materialhåndteringsoverveielser; f.eks. evnen for det anvendte utstyr til å overføre oppslemmingen til trykkokeren. Det er også foretrukket spesielt med vegetabilske proteinkilder slik som soyabønner, at proteinkilden blir brukt i partikkelform for å øke påvirkningen av løsningsmidlet på proteinet. Således kan om nødvendig proteinmaterialet slik som soyabønner, males, avskalles, eller opprives til partikkelform.

Den vandige oppslemmingens pH er ikke kritisk og kan variere fra ca. 1,5 til 11, unntatt det isoelektriske punkt for det spesielle protein som blir utskilt. Det er imidlertid vanligvis en optimal pH for proteinutbyttet fra et spesielt kildemateriale. Således er den optimale og foretrukne pH for behandling av soyabønner ca. 6,8 til 7,2; for mais 6,8 til 9,0, for alfalfa og blågress (blue grass) 7,0 til 11,0, og for mikrobielt materiale 6,0 til 9,0. Justering av pH til optimum kan utføres ved å tilsette forskjellige kationer slik som NH_4^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{++} osv. til den vandige oppslemming.

I trinn 2 blir oppslemmingen fra blandetanken raskt oppvarmet til en temperatur innenfor området fra ca. 121 til 177°C. Oppvarmingen utføres under trykk som varierer fra ca. 1,05 kg/cm² til 17,6 kg/cm². Ethvert passende oppvarmingsutstyr kan anvendes. Oppslemmingen holdes ved en temperatur fra 121 til 177°C under trykk i en relativt kort periode, vanligvis i perioder på ikke mer enn ca. 4 til 6 minutter. Denne relativt korte oppvarmingsperiode ved høye temperaturer under trykk er et viktig trekk ved fremgangsmåten for å oppnå maksimal ekstraksjon av proteinet. Behandlingen ved høyt trykk og temperatur i en kort periode ødelegger mikrobearter effektivt som kan være tilstede og inaktiverer i tillegg i tilfelle av soyabønner trypsininhibitorer.

I trinn 3 blir den oppvarmede oppslemming raskt avkjølt

ved raskt å overføre den varme oppslemming til et tørkekammer under et trykk mindre enn det som anvendtes i varmetrinnet eller til et vakuumkammer for å gjennomføre dampfrigjøring. I dette trinnet er det ønskelig å oppnå maksimum fordampning og trykk eller negative trykk (vakuum) kan velges for å gjennomføre dette. Dette flash-kjøletrinnet øker ytterligere proteinutbyttet på grunn av partikkelødeleggelse forårsaket av plutselig trykkreduksjon. Tørrstoffinnholdet i oppslemmingen økes på grunn av frigjøring av damp og det blir samtidig gjennomført en meget viktig desodorisering. Utvinning av dampbestanddeler kan utføres på konvensjonell måte om ønsket.

I trinn 4 blir den avkjølte oppslemming fjernet fra flash-kammeret og er så egnet for videre behandling for å fremstille ønskede proteinprodukter slike som melkelignende produkter, proteinmel, konsentrater eller utfelninger. Oppslemmingen fra flash-kammeret kan utsettes for tørking for å fremstille et proteinmel. På lignende måte kan det utsettes for fraskilling for å fjerne den u-løselige del fra den løselige væskeporsjon som kan utnyttes som basis for fremstilling av f.eks. soyamelk. Den løselige del kan tørkes under egnede betingelser for å fremstille et proteinkonsentrat med høy vannløselighet. Videre rensing av denne løselige porsjon i et isolat kan utføres ved å utsette den for en isoelektrisk utfelning eller alkoholutfelning for å fremstille proteinisolat eller -utfelning av høy kvalitet. Oppslemmingen som fjernes fra flash-kammeret, inneholder en stor mengde av utvinnbart protein i proteinkildematerialet. F.eks. inneholder i tilfelle av soyabønner oppslemmingen over 80% av det tilgjengelige protein som er en forbedring sammenlignet med tidligere kjente fremgangsmåter.

De følgende eksempler illustrerer oppfinnelsen og fordelene ved den ytterligere. I disse eksempler ble proteinkildematerialet i form av oppslemming varmebehandlet ved som utstyr å benytte det som er beskrevet nedenfor selv om forskjellige typer av andre egnede apparater kan brukes på lignende måte:

Oppslemmingen som skal oppvarmes ble plassert i en rustfri stålkjele utstyrt med en rører. Kjeleutløpet er forbundet med en egnet pumpe ved hjelp av en høytrykksslange. Pumpeutløpet er forbundet ved en høytrykksslange til et T-rør av stål for avsuging. En dampkilde blir forbundet med T-røret med en kran som er beliggende i damplinjen like før T-røret.

T-rørets utløp er forbundet med et rustfritt stålrør med en diameter på 19,0 mm og en lengde av ca. 14,6 m. Dette røret danner en trykkoker. Et termometer er plassert i røret 3,65 m fra enden og ved utløpsenden for systemet er det en trykkmåler og en nålstruventil.

Røret løper ut i et ventilert flash-kammer. Et utløp i bunnen av flash-kammeret fører over i et passende mottagerkar.

Eksempel 1

Hvite soyabønneflak hvor løsningsmidlet var flashfjernet, med et P.D.I.-tall (protein-dispersjonsindeks) over 80% ble malt ved hjelp av en brynemølle (burr mill) til en finhet som tillater alt materiale å passere en 10 mesh og intet å passere en 100 mesh standard sikt. 3,4 kg av det malte melet ble tilsatt til 54,5 l vann i kokermatekjelen og grundig blandet for å danne en jevn dispersjon. Denne dispersjons pH var 6,7. Soyabønnemel-vanndispersjonen ble matet gjennom trykkokeren med en hastighet av 90 liter pr. time. Temperaturen i systemet ved 3,65 m-punktet ble holdt ved 149°C ved delvis struping av ventilen like foran innløpet til det ventilerte flash-kammer. Koking ble utført ved et trykk på i det minste 2,8 kg/cm² i en periode på mindre enn 4 minutter. Innholdet i røret etter T-rør-utløpet var en blanding av damp og oppslemming av 149°C. Den varme uttømte oppslemming, flash-kjølt i flash-kammeret som var ventilert til atmosfæren, inneholdt 3,11% totalt tørrstoff som var noe fortynnet på grunn av den kondenserte damp som var innblandet i oppslemmingen under oppvarmingssyklusen.

En alikvot på 693 g av den varme oppslemming ble sentrifugert. Etter sentrifugering ble væsken skilt fra den faste rest ved dekantering i et begerglass. I alt 630 g dekantert væske ble oppnådd inneholdende 2,58% totalt tørrstoff. Slammet som ble igjen i sentrifugeflaskene ble fjernet og tørket i et tørkeskap ved 100°C. Det tørkede slam inneholdt 9,3% av det innførte protein, 21% av det innførte tørrstoff og inneholdt 21,6% protein.

pH-verdien til den utvunne dekanterte væske, som utgjorde 630 g, ble justert til det isoelektriske punkt for soyabønneprotein med fortynnet saltsyre. Etter henstand ble bunnfallet skilt fra oppløsningen ved sentrifugering. 562,2 g dekantert væske med 1,01% totalt tørrstoff ble gjenvunnet fra det pH-justerte materiale. Proteinbunnfallet som var igjen i sentrifugeflaskene

ble fjernet og tørket i en laboratorieovn ved 100°C. Det tørkede bunnfall veide 12,0 g, inneholdt 81% av det tilførte protein, 50,7% av det innførte tørrstoff og hadde et proteininnhold på 86,2%.

Eksempel 2

Hvite soyabønneflak som var flash-behandlet for fjerning av løsningsmiddel, med et P.D.I. (protein-dispersjonsindeks)-tall på over 80% ble vasket ved tilsetning av 3,6 kg flak til 45,3 kg vann ved pH 4,5. Flakene ble blandet i 30 minutter og den uløselige rest gjenvunnet ved sentrifugering. Den oppnådde faste rest (soyabønnemel) ble tilsatt til vann og grundig blandet for å danne en jevn dispersjon. Dispersjonens pH var ca. 6,7. Soyabønnemel-vanndispersjonen ble matet gjennom trykkokeren som beskrevet ovenfor med en hastighet av 90 liter pr. time. Temperaturen i systemet ved 3,65 m-punktet ble holdt ved 149°C ved delvis struping av ventilen like før flash-kammerinnløpet. Kokingen ble utført ved et trykk på minst 2,8 kg/cm² i mindre enn 4 minutter. Oppslemmingen ble flash-kjølt ved å overføre den til flash-kammeret som var ventilert til atmosfæren.

En alikvot av den ovenstående oppslemming ble sentrifugert. Etter sentrifugering ble den oppnådde væske justert til det isoelektriske punkt for soyabønneprotein ved hjelp av saltsyre. Etter henstand ble bunnfallet skilt fra ved sentrifugering. Bunnfallet ble fortynnet med vann til en pumpbar konsistens (15-20% tørrstoff) og pH justert til 7,0 ved bruk av natriumhydroksyd og spraytørket. Det spraytørkede bunnfall inneholdt 92,8% protein, viste seg negativt på trypsin-inhibitorer og passerte de bakterielle spesifikasjoner for U.S. ekstra grad spiselig kasein som er angitt i The Federal Register, bind 33, nr. 141, s. 10385.

Eksempel 3

Et soyabønnekonsentrat fremstilles ved varmebehandling av soyabønneflak som i eksemplene 1 eller 2 og sentrifugering av den oppnådde oppslemming. Sentrifugevæsken blir justert til pH 7,0 med natriumhydroksyd og så spraytørket. Det oppnådde, tørkede produkt er karakterisert ved et høyt innhold (> 90%) av det innførte udenaturete protein, er i det vesentlige fritt for trypsin-inhibitorer, er desodorisert og har løselighetsegenskaper i vann som er synlig øket når de sammenlignes med vanlige konsentrater.

Eksempel 4

Sammenpresset brennerigjær inneholdende 57% protein på tørrstoffbasis ble oppslemmet i springvann ved en temperatur på fra 30 til 32°C for å danne en oppslemming inneholdende 3,9% totalt tørrstoff. Oppslemmingens pH ble justert til 7,0 med alkali. Oppslemmingen ble trykkokt ved bruk av det tidligere nevnte utstyr ved en temperatur av 149°C og et trykk på minst 4,5 kg/cm² og en kontakttid på 4 minutter.

Den oppslemming som oppnåddes fra trykkokeren og som ble flashkjølt i det ventilerte flash-kammer, inneholdt 2,75% faste stoffer og var noe fortynnet på grunn av den kondenserte damp som ble innført i oppslemmingen under oppvarmingssyklusen.

En alikvot på 503,2 g av oppslemmingen ble sentrifugert for å skille det løselige fra det uløselige. Etter sentrifugering ble den uløselige fase tørket. Det tørkede produkt hadde et proteininnhold på 64,3% og inneholdt 83,1% av det innførte protein.

En annen alikvot av den trykkokte oppslemmingen oppnåddes og de to faser ble separert mens oppløsningen var varm. Den utstrømmende væskes pH ble senket til 2,5 med syre for å danne et bunnfall.

Bunnfallet ble gjenvunnet ved sentrifugering og tørket. Det tørkede bunnfall inneholdt 89,1% protein.

En tredje alikvot av den trykkokte oppslemmingen oppnåddes og til denne oppslemming ble satt dioktylnatriumsulfosuksinat på et nivå lik ½% av det tilstedeværende tørrstoff. Oppslemmingen ble holdt varm og grundig blandet før det løselige ble skilt fra det uløselige. Den løselige fraksjons pH ble senket til 2,5 med syre for å danne et bunnfall. Bunnfallet ble gjenvunnet og tørket, og det tørkede produkt inneholdt 90,9% protein.

De ovenstående eksempler illustrerer den høye gjenvinning av protein fra proteinkildematerialer som kan oppnås ved nærværende fremgangsmåte. Det vil forstås at fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan utføres ved bruk av ethvert passende utstyr som gir oppvarming av proteinkildematerialet under trykk og med oppvarmingen gjennomført direkte, slik som dampinjeksjon eller indirekte slik som i en varmeveksler. Enhver passende innretning for gjennomføring av flash-kjøling av det varmebehandlede materiale kan brukes. Likeledes kan tørking av det ekstraherte protein utføres på mange forskjellige måter slik som spraytørking, frysetørking eller kjemisk tørking, f.eks. ved bruk av kjemikalier som

fjerner vann, f.eks. metanol eller aceton.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen byr på mange fordeler som fremgår tydelig av den foregående beskrivelse av oppfinnelsen. Blant fordelene ved oppfinnelsen som kan nevnes, er: a) den beskrevne fremgangsmåte kan utføres på kontinuerlig måte; b) høyt utbytte av tilgjengelig protein fra forskjellige kildematerialer kan lett oppnås; c) det ekstraherte protein blir ikke vesentlig denaturert; d) det oppnådde protein er av høy renhet; e) trypsininhibitorer som normalt er tilstede i visse proteinkilder slik som soyabønner blir betydelig inaktivert; f) fremgangsmåten kan underkastes forskjellige modifikasjoner for å øke dens økonomiske tiltrekning; g) de faste materialene fremstilt som biprodukter ved fremgangsmåten (f.eks. uløselige materialer som oppstår under varmetrinnet) kan fordelaktig anvendes som dyrefôr.

Disse modifikasjoner og ekvivalenter som faller innenfor oppfinnelsens ånd skal ansees som en del av den.

P a t e n t k r a v .

Fremgangsmåte for utvinning av hovedmengden av proteinet fra et proteinholdig kildemateriale, k a r a k t e r i s e r t ved at det ved en annen pH-verdi enn proteinets isoelektriske pH-verdi lages en vandig oppslemming av proteinkildematerialet, oppslemmingen oppvarmes hurtig under trykk til, og holdes ved, en temperatur i området fra 121 til 177°C i mindre enn 6 minutter, den oppvarmede oppslemming flash-avkjøles under redusert trykk for oppnåelse av separasjon av damp derfra, og den avkjølte oppslemming som inneholder protein i løsning, oppsamles.