



**NORGE**

(19) [NO]

STYRET FOR DET  
INDUSTRIELLE RETTSVERN

[B] (12) **UTLEGNINGSSKRIFT** (11) **NR. 156474**

(51) Int. Cl.<sup>4</sup> A 23 J 3/00, A 23 L 1/305  
C 12 P 21/06

(83)

(21) Patentsøknad nr. **823675**  
(22) Inngivelsesdag 04.11.82  
(24) Løpedag 04.11.82  
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(86) Internasjonal søknad nr. -  
(86) Internasjonal inngivelsesdag -  
(85) Videreføringsdag -

(71)(73) Søker/Patenthaver **HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT,**  
Postfach 800320,  
D-6230 Frankfurt am Main 80,  
BRD.

(41) Alment tilgjengelig fra 06.05.83  
(44) Utlegningsdag 22.06.87

(72) Oppfinner **UDO SCHARF,**  
Frankfurt/Main,  
**MERTEN SCHLINGMANN,**  
Königstein/Taunus,  
**GERT-WOLFHARD VON RYMON LIPINSKI,**  
Frankfurt/Main,  
BRD.

(74) Fullmektig Mag.scient. Knud-Henry Lund,  
Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 05.11.81, DE, nr. P 31 43 947.

(54) Oppfinnelsens benevnelse **FREMANGSMÅTE TIL FREMSTILLING AV FUNKSJONELLE  
PROTEINHYDROLYSATER.**

(57) Sammendrag

Funksjonelle hydrolysater av mikrobielle egge-  
hviteisolater med

- et proteininnhold over 90 vekt-%
- et nukleinsyreinnhold under 2 vekt-%
- et lipidinnhold under 1 vekt-%
- en suspenderbarhet på 80-100%
- en skumbarhet karakterisert ved et skumnings-  
tall på 4-7
- en skumstabilitet karakterisert ved en halv-  
eringstid på 10-300 minutter
- en emulgeringsevne karakterisert ved en emul-  
sjonkapasitet på 300-500 ml olje/g protein
- en molekylvekt mellom 125 000 og 100 Dalton.

De herav fremstilte fraksjoner av eggehvitehydro-  
lysater fåes fra mikrobielle eggehvitestoffer etter  
ekstrahering av nukleinsyren og lipidene ved enzym-  
atisk hydrolyse. Hydrolysatene egner seg som nærings-  
middeltilsetninger.

(56) Anførte publikasjoner

Britisk (GB) patent nr. 1536990 (C07G 7/00),  
Svensk (SE) utl.skrift nr. 432609 (C12N 1/08).

Oppfinnelsens gjenstand er fremgangsmåte til fremstilling av funksjonelle proteinhydrolysater fra et mikrobielt proteinisolat.

- 5 Fremstillingen av mikrobielle proteiner er allerede omtalt i mange publikasjoner. En spesielt fordelaktig fremgangsmåte er kjent fra det tyske patent 26 33 451 hvor en proteinrik bakteriecellemasse utvinnes ved dyrking av bakterier av stammen methylomonas clara ATCC 31 226 i et metanolholdig
- 10 næringsmedium. Fra det således utvunne bioprotein lar det seg fremstille et for næringsmiddelformål egnet proteinisolat hvori ifølge fremgangsmåten ifølge DE-AS 26 33 666 ved ekstrahering med en spesiell oppløsningsmiddelblanding lipid- og nukleinsyreinnholdet reduseres betraktelig. Uten nedsett-
- 15 else av det i mikrobielt fremstilte bioproteiner ikke anvendbare for næringsmiddelformål, spesielt for menneskenæring da nukleinsyrene ikke fullstendig avbygges i den menneskelige organisme og avbygningsproduktene bare utskilles i utilstrekkelig grad. Det kan derfor komme til anrikning av
- 20 nukleinsyreavbygningsprodukter i organismen og derved frembringes sykdommer som gikt.

Enskjønt de ifølge fremgangsmåten ifølge DE-AS 26 33 666 fremstilte eggehviteisolater er høyverdige proteiner, er

25 det for deres anvendelse i næringsmidler satt grenser fordi deres næringsmiddelteknologiske egenskaper enda ikke tilfredsstillende alle krav. Av nye eggehvitestoffer forlanges ved siden av gode ernæringsfysiologiske egenskaper alt etter det foreskrevne anvendelsesområdet en god oppløselighet

30 eller suspenderbarhet, en høy skumbarhet og skumstabilitet samt en til de eventuelle krav tilfredsstillende oljebindfasthet av emulsjonens kapasitet. Hvilke av disse funksjonelle egenskaper som fremfor alt kreves avhenger av den eventuelt foreskrevne anvendelse av proteiner. Det skal

35 f.eks. anvendes til forbedring av egenskapene av en majones skal forlanges av det fremfor alt den evne under stabiliserende emulsjoner. Skal det derimot anvendes i skumbakst

som en marengs, forlanger man fra en dertil egnet eggehvite fremfor alt høy skumbarhet og skumstabilitet. Er derimot dets anvendelse tenkt som kaffelysgjører da er det ved siden av emulsjonskapasiteten spesielt viktig at eggehvitene er  
5 godt oppløselige.

For å rettferdiggjøre disse mangfoldige krav er det derfor allerede fremkommet tallrike forslag til modifisering av proteiner. Således er det fra den alment tilgjengelige  
10 japanske søknad Sho 53-6491 allerede kjent for skumdannelse av egnede vannoppløselige eggehvitestoffer som fremstilles ved proteolyttisk avbygning av mikrobielt fremstilte proteiner. De således dannede eggehvitestoffer skal også være anvendbare til skumdannelse i ildslukningsmidler og i sement.

15 Fra britisk patentsøknad 2 043 651 er det kjent en fremgangsmåte til fremstilling av et for proteiner og makropeptider befridd eggehvitehydrolysat ved anvendelse av ultrafiltrering. Derved fåes en blanding av peptider av lav molekylvekt  
20 som kan anvendes som diett næringsmiddel. Fremstillingen av funksjonelle eggehvitehydrolysater omtales ikke her.

I det tyske Offenlegungsschrift 2 745 954 omtales en fremgangsmåte til fremstilling av funksjonelle proteiner hvor  
25 ikke rensset naturlig protein av forskjellig opprinnelse oppvarmes i vandig medium til proteinutfelling og det utfelte adskilte protein behandles deretter med proteolyttiske enzymer. Det dannede eggehvitehydrolysat skal ikke ha noen bitter smak og fremfor alt utmerke seg ved god vannoppløselighet og varmestabilitet over et vidt pH-område. Så  
30 vidt mikrobielle proteiner anvendes, nevnes som utgangsprodukter bare gjær, imidlertid ingen bakterier. De utvunnede eggehviteprodukter tilskrives riktignok generelt funksjonelle egenskaper. Disse egenskaper karakteriseres  
35 imidlertid ikke mer nøyaktig og det vises heller ikke hvilke anvendelsesmuligheter som fremkommer på grunn av spesielle funksjonelle egenskaper.

Det forelå derfor den oppgave å fremstille ernæringsfysiologisk høyverdig og smaksmessig gode eggehvitehydrolysater som på grunn av deres spesifikke næringsmiddelteknologiske egenskaper er i stand til å overta helt spesielle funksjoner ved forarbeidelsen til høyverdige næringsmidler. Denne oppgave skulle løses på grunnlag av mikrobielle eggehvitestoffer som f.eks. er tilgjengelig ved fremgangsmåten ifølge tysk patent 26 33 451 eller andre fremgangsmåter hvori det anvendes mikroorganismer til proteindannelse.

10

Oppfinnelsen vedrører en fremgangsmåte til fremstilling av funksjonelt hydrolysat med et proteininnhold over 90 vekt-%, et nukleinsyreinnhold under 2 vekt-%, et lipidinnhold under 1 vekt-%, en suspenderbarhet på 80-100%, et skumningstall på 4-7, en halveringstid for skummet på 10-300 minutter, en emulsjonskapasitet på 300-500 ml olje/g protein og en molekylvekt mellom 125.000 og 100 Dalton fra et mikrobielt proteinisolat ifølge hvilke proteinisolat først ekstraheres med en i det vesentlig vannfri blanding av metanol og ammoniakk for minskning av lipidinnholdet og deretter med vann for minskning av nukleinsyreinnholdet, idet fremgangsmåten er karakterisert ved at det oppnådde proteinmaterialet deretter hydrolyseres enzymatisk ved hjelp av en eller flere endoproteaser til det funksjonelle hydrolysat, hvorefter dette hydrolysat eventuelt oppdeles i en fraksjon (A) som med ellers samme egenskaper som det nevnte hydrolysat har

30

en oppløselighet på 100%,  
et skumningstall på 9-16,  
en halveringstid for skummet på 20-120 minutter,  
en emulsjonskapasitet på 30-60 ml olje/g protein og  
en molekylvekt mellom 5.000 og 100 Dalton,

og en fraksjon (B) som ved ellers slike egenskaper som det nevnte hydrolysat har

35

156474

en suspenderbarhet på 70-90%,  
et skumningstall på 1-3,  
en halveringstid for skummet på 2-1000 minutter,  
5 en emulsjonskapasitet på 400-800 ml olje/g  
protein og  
en molekylvekt mellom 125.000 og 5000 Dalton,

ved ultrafiltrering, idet fraksjonen (A) fåes som permeat  
10 og fraksjonen (B) som retentat.

Ved ovennevnte fremgangsmåte kan fraksjonering av det  
funksjonelle hydrolysat gjennomføres uten å isolere dette  
ved hjelp av en membranreaktor, idet fraksjon (A) fåes  
15 som permeat og fraksjon (B) som retentat.

Ovennevnte kombinasjon av viktige næringsmiddelteknologiske  
egenskaper hvorunder spesielt den gode skumbarhet og  
skumstabilitet samtidig høy emulgerbarhet er å fremheve,  
20 gir fagfolk med en gang den første henvisning på de  
mulige anvendelsesområder av slike eggehvitehydrolysater.  
Alltid når næringsmidler skal ha en løsgjort struktur  
samtidig imidlertid inneholde vannoppløselige og fett-  
uoppløselige bestanddeler slik det f.eks. er tilfelle  
25 ved desserter, bake- og deigvarer og imitasjonsost,  
også ved tilsetning av ovennevnte eggehvitehydrolysater  
ikke bare en ernæringsfysiologisk forbedring, men også  
en teknologisk forarbeidelse av næringsmidlet lettes.

30

35

Det finnes imidlertid mange næringsmiddelteknologiske problemstillinger som ikke mer kan løses ved et slikt universielt eggehvitehydrolysat. Således finnes det eksempelvis anvendelsesområder hvori det til skumbarhet og skumstabilitet dessuten stilles vesentlig høyere krav, idet imidlertid en god emulgeringsevne er mindre forlangt. Herved er det f.eks. tenkt på skumaktige sukkervarer som marengs, skummet spiseis, desserter og lignende. Dessuten står på andre anvendelsesområder krav til en høy emulgeringsevne i forgrunnen.

5

Her kan det f.eks. nevnes spesielt i pølsevarer, osteprodukter, konditorivarer, kremer, men også majoneser og salatsaus og andre fett-tilberedninger.

10

Disse oppgaver kunne nå løses ved bestemte fraksjoner (A) av ovennevnte eggehvitehydrolysat.

15

Ved denne egenskapskombinasjon er ved siden av den gode oppløselighet fremfor alt en fremragende skumbarhet påfallende, mens emulgeringsevnen ikke er sterkt utpreget.

20

Et annet egenskapsbilde viser imidlertid en annen fraksjon (B) av det funksjonelle eggehvitehydrolysat av ovennevnte type.

Denne fraksjon utmerker seg altså ved en spesiell høy emulgeringsevne.

25

Det ovenfor i første rekke nevnte universelt anvendbare funksjonelle eggehvitehydrolysat fremstilles ved at et mikrobielt eggehvitestoff, fortrinnsvis protein utvunnet av bakterier, spesielt av metylomonas clara ATCC 31 226 i første rekke underkastes en ekstraheringsbehandling for å nedsette dets nukleinsyre- og dets lipidinnhold og deretter avbygges hydrolyttisk ved innvirkning av en eller flere endoproteaser. Den for anvendelse av det funksjonelle eggehviteisolat ifølge oppfinnelsen som næringsmiddel vesentlig nedsettelse av nukleinsyre- og lipidinnhold av proteinmassen kan riktignok gjennomføres etter en rekke

30

35

forskjellige fremgangsmåter som vanligvis er karakterisert ved alkalisk opplutning av cellematerialet. Av alle disse fremgangsmåter er det imidlertid å foretrekke den fra det tyske utlegningsskrift 26 33 666 kjente fremgangsmåte hvor  
5 cellematerialet i første rekke behandles med en mest mulig, til fullstendig, vannfri ekstraheringsblanding av en alkohol som metanol og ammoniakk og deretter med vann. Denne metode er vesentlig mer skånende enn alle andre fremgangsmåter, hindrer en avbygning eller beskadigelse av proteinet og  
10 fører allerede etter en meget kort innvirkningstid til en omtrent fullstendig fjerning av lipider og nukleinsyrer.

Det til den således fremstilte proteinmasse settes for hydrolyse hensiktsmessig i første rekke sterilt, filtrert  
15 drikkevann inntil det er nådd et tørrstoffinnhold mellom 10 og 20 vekt-%. pH-verdien og suspensjonen innstilles hensiktsmessig med fortynnet NaOH på den for virkningen av den til anvendelse kommende protease optimale pH-verdi som vanligvis ligger mellom 7,0 og 8,0. Til suspensjonen  
20 settes deretter proteasen ved en temperatur mellom 30 og 50°C, idet vektforholdet enzym/substrat skal ligge mellom 1:500 og 1:1000.

De anvendte enzymer er endoproteaser hvis pH-optimum fortrinnsvis ligger i det nøytrale området. For oppnåelse av  
25 smaksmessig godt eggehvitehydrolysat som er fritt for en hver bitter smak, har det fremfor alt vist seg spesielt egnet proteasene alkalase 0,6 L, corolase S 60, trypsin PTN 3,0S og  $\alpha$ -chymotrypsin samt blandinger av disse  
30 enzymer.

Under den 15-240 minutter lange proteolyse holdes blandingens temperatur konstant. Derved forskyver suspensjonens pH-verdi seg langsomt til det sure området. Det er derfor  
35 nødvendig med stadig etterdosering av alkali, spesielt fortynnet natronlut og sørge for at den pH-verdi bibeholdes som er optimal for virkningen av dette enzym.

Etter avslutningen av inkubasjonen oppvarmes blandingen for inaktivering av enzymet fortrinnsvis ca. 5 minutter ved 80°C. Det således dannede hydrolysat kan direkte føres til tørkeprosessen eller viderespaltes ved fraksjonering for å få  
5 eggehvitehydrolysater med høyspesifikke egenskaper.

Den enkleste mulighet til viderebearbeiding av ovennevnte eggehvitehydrolysat består i at spesielt høymolekylære, ikke-suspenderbare partikler adskilles ved hjelp av en separator.  
10 Det da dannede produkt har da riktignok alle øvrige egenskaper av det opprinnelige eggehvitehydrolysat, utmerker seg imidlertid med en 100%-ig suspenderbarhet. Vanligvis må den ved separeringen utvunne tynnfase imidlertid dessuten viderespaltes ved fraksjonering.

15 For oppdeling av separator tynnfasen egner det seg fremfor alt ultrafiltrering, idet det kommer til anvendelse et platefilter eller hulfibre med en oppslutningsgrense på 80.000-100.000 Dalton. Herved oppnås en adskillelse i en  
20 klar oppløselig lavmolekylær fraksjon, permeatet og en uklar suspenderbar høymolekylær fraksjon, retentatet. Permeatet fra ultrafiltreringen er en klar vannoppløselig peptidblanding med en molekylvektfordeling mellom 100 og 5.000 Dalton. Den er lett fordøyelig og egner seg av denne grunn også  
25 meget godt ved såvel til eggehviteanrikning av flytende næringsmiddel som også til enteral ernæring av nyopererte pasienter. Spesielt bemerkelsesverdig med hensyn til de funksjonelle egenskaper av denne funksjon er imidlertid at de allerede ikke fraksjonerte eggehvitehydrolysat tilstedeværende skumnings- og skumstabiliseringssegenskaper er kon-  
30 sentrert i denne lavmolekylære fraksjon.

Derimot er retentatet fra ultrafiltreringen en uklar suspensjon som etter tørkning kan suspenderes godt i vann.  
35 Denne fraksjon viser meget gode emulsjonsstabiliserings-egenskaper og kan derfor finne anvendelse som emulgator i fettrike næringsmidler. Dessuten viser denne fraksjon utpregede viskositetsøkende egenskaper som muliggjør dens

anvendelse som fortykningsmidler ved fremstillingen og tilberedningen av næringsmidler.

5 En spesiell enkel fraksjonering av det ved proteolyse dannede hydrolysat er mulig ved hjelp av en membranreaktor. Herved er det nemlig ikke mer nødvendig å isolere hydrolysatet før fraksjoneringen, men allerede under hydrolysen adskilles stadig den lavmolekylære fraksjon mens den høyeremolekylære del forblir i reaktoren som retentat.

10 Følgende eksempler forklarer fremstilling, utprøving og anvendelse av eggehvitehydrolysatene ifølge oppfinnelsen. Prosentangivelser refererer seg til vekt hvis intet annet er angitt.

15 Som proteinisolat ble det anvendt et produkt ifølge det tyske patent 2 633 451, eksempel 2.

#### Eksempel 1

20 100 g mikrobielt proteinisolat hvis nukleinsyre- og lipidinnhold er blitt nedsatt etter fremgangsmåten ifølge tysk utlegningsskrift 2 633 666, suspenderes i 900 ml vann og pH-verdien innstilles ved tilsetning av 4 N NaOH til 8,0. Suspensjonen forinkuberes ved 45°C og blandes med 0,5 ml  
25 alkalase 0,6 L (Fa. Novo) og inkuberes 15 minutter under omrøring ved 45°C. For inaktivering av enzymet oppvarmes blandingen 5 minutter ved 90°C, pH-verdien innstilles på 7,0 og suspensjonen tørkes.

#### Eksempel 2

30 100 g mikrobielt proteinisolat hvis nukleinsyre- og fettinnhold er blitt nedsatt ved fremgangsmåten ifølge tysk utlegningsskrift 2 633 666, suspenderes i 900 ml vann og pH-verdien innstilles ved tilsetning av 4 N NaOH på 8,0. Suspensjonen  
35 forinkuberes ved 45°C og blandes med 100 mg trypsin PTN 3.0S (Fa. Novo) og inkuberes ved konstant pH-betingelser i 4 timer under omrøring ved 45°C. For inaktivering av enzymet oppvarmes blandingen 5 minutter ved 80°C, pH-verdien innstilles på 7,0 og suspensjonen tørkes.

Eksempel 3

Det g aes frem som i eksempel 2 imidlertid gjennomf ores proteo-  
lysen ved tilsetning av 150 ml trypsin/chymotrypsin 2/1S  
5 (Fa. Novo), videre forarbeides deretter imidlertid som i eks-  
empel 2.

Eksempel 4

10 Det i eksempel 2 fremstilte hydrolysat underkastes f or t ork-  
ning en ultrafiltrering p a et Hollow-Fiber-ultrafiltrerings-  
system (Fa. Amicon DC-2) med patroner av en oppslutnings-  
grense p a 100.000 Dalton (H1P 100). Retentatet og permeatet  
samles adskilt og t orkes.

15

Eksempel 5

1 g mikrobielt proteinisolat hvis nukleinsyre- og fettinn-  
hold er blitt nedsatt ved fremgangsm aten if olge tysk utlegnings-  
20 skrift 26 33 666 suspenderes i 9 liter vannog pH-verdien inn-  
stilles ved tilsetning av 4 N NaOH p a 8,0. Suspensjonen for-  
inkuberes i en enzymreaktor ved 45 C og blandes med 1 g try-  
psin PTN 3. O S (Fa. Novo) og inkuberes under konstante tempe-  
ratur- og pH-betingelser under omr oring. Etter 30 minutters  
25 inkubasjonstid settes en ekstrem sirkulering av inkuba-  
sjonsblandingen over en Hollow-Fiber-ultrafiltreringssystem  
(Fa. Amicon DC-10) i drift med patroner av oppslutningsgrense  
5000 Dalton (H 10 P5), retentatet tilbakef ores til enzym-  
reaktoren og v skevolumet korrigeres med vann. Permeatet  
30 samles og t orkes.

Etter avslutning av inkubasjonstiden inaktiveres enzymet i  
enzymreaktoren ved hjelp av varmebehandling (5 minutter/  
80 C) og retenatet t orkes.

35

156474

10

Eksempel 6

De ifølge eksempel 1-5 fremstilte mikrobielle proteinhydrolysater ble undersøkt og deres oppløselighetsegenskaper:

5

100 ml av en 10%-ig suspensjon innstilles til den ønskede pH-verdi (HCl/NaOH), homogeniseres kort og sentrifugeres i et på forhånd veiet sentrifugeglass ved 1500 g. Det overstående avdek anteres og sedimentet tørkes ved 100°C til konstant vekt. Glasset med residuet veies og oppløseligheten beregnes.

	Produkt fra	Fraksjon	Oppløselighet (%) ved pH		
			3,0	5,0	7,0
15	Eksempel 1	-	81	81	97
	Eksempel 2	-	77	90	91
	Eksempel 3	-	85	94	98
	Eksempel 4	permeat	100	100	100
		retentat	71	68	90
20	Eksempel 5	permeat	100	100	100
		retentat	73	70	91

Eksempel 7

25

De etter eksemplene 1-5 fremstilte proteinhydrolysater ble undersøkt på deres skumningsegenskaper:

25 ml av 5% suspensjon innstilles på den ønskede pH-verdi (HCl/NaOH) og skummes i en 500 ml målesylinder med laboratorie-homogenisator ("Ultraturrax fra fa. Jahnke & Kunkel, type T 45) i et minutt. Det bestemmes:

30

Skumningstall:  $\frac{\text{Skumvolum (ml)}}{\text{Utgangsvolum (ml)}}$

35

(overensstemmende med: Lin, M.J.Y.; Humbert, E.S.: J.Food Sci. 39, 368 (1974)).

Skumholdeverditid: Tidsrom, inntil 50 volum-% av utgangs-  
oppløsningen igjen er trådt ut av skummet.

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

5

Produkt fra	Fraksjon	Skumningstall ved pH						Halveringstid (min) ved pH					
		3	4	5	6	7	8	3	4	5	6	7	8
10 Eks. 1	-	4,0	4,2	4,6	4,3	4,2	3,9	48	115	17	15	14	10
Eks. 2	-	4,5	5,5	5,8	6,0	6,2	4,5	300	210	150	40	20	15
Eks. 3	-	5,0	5,6	7,0	6,5	6,0	5,4	300	95	43	31	24	18
Eks. 4	permeat	12,8	15,2	15,6	15,6	16,0	14,8	120	114	97	35	42	20
	retentat	2,1	1,9	1,5	2,4	2,4	2,4	1000	1000	1000	1000	5	2
15 Eks. 5	permeat	11,9	14,8	15,2	15,8	15,3	14,5	123	118	105	37	49	23
	retentat	2,4	2,1	1,9	3,0	2,9	2,4	1000	1000	1000	915	7	4

#### Eksempel 8

20 De etter eksemplene 1-5 fremstilte proteinhydrolysater ble under-  
søkt på deres emulgeringsevne:

20 ml produktoppløsning (10, 5, 1 respektiv 0,5%) ble innstilt  
25 på den ønskede pH-verdi (HCl/NaOH) og emulgert med 60-80 ml  
solsikkeolje ved hjelp av en laboratorie-homogenisator ("Ultra-  
turrax" Janke & Kunkel, type 18-10). Vurderingen av den dann-  
ede emulsjon foregikk i tilknytning til Aoki, H.; Nagamori, N:  
Nippon Shokulin Kogyo Gakkaishi 28 (11), 550 (1980) ved be-  
stemmelse av viskositeten (visko-måler Haake VT 181).

30

Emulsjonskapasitetene definert som ml olje/g protein  
(Kinsella, J.E.: Critical Reviews in Foods Science and  
Nutrition 4, 219 (1976):

35

156474

12

Produkt fra	Fraksjon	Emulsjonskapasitet	
		pH 5	(ml olje l protein) pH 7
Eksempel 1	-	300	500
5 Eksempel 2	-	500	500
Eksempel 3	-	300	300
Eksempel 4	permeat	60	60
	retentat	800	600
Eksempel 5	permeat	60	30
10	retentat	600	400

Eksempel 9

15 Molekylvektbestemmelsene i produktene fra eksempel 1-3 og retentatene fra eksempel 4 og 5 foregår over gelkromatografi på "Sephadex" G 100 i en 48% urinstoff og 0,1% natrium-laurylsulfatholdig ammoniumacetatpuffer av pH 7,4.

Produkt fra	Fraksjon	Molekylvekt
20 Eksempel 1	-	100 -125.000 Dalton
Eksempel 2	-	100 -125.000 Dalton
Eksempel 3	-	100 -125.000 Dalton
Eksempel 4	retentat	5000 -125.000 Dalton
25 Eksempel 5	retentat	5000 -125.000 Dalton

Eksempel 10

30 Molekylvektbestemmelsen av permeatene fra eksempel 4 og 5 foregikk over gelkromatografi på "Sephadex" G50 og G25 i 0,01 M Na-acetatpuffer pH 7,0. Permeatene er karakterisert ved en molvekt mellom 100 og 5000 Dalton.

35

Eksempel 11

Av de fra eksemplene 4 og 5 fremstilte permeat av membranfiltrasjonen fremstilles en 10-15 % (v/g) oppløsning i vann.

5

50 ml av denne oppløsning slås med en husholdningsmixer til en stiv skummasse og porsjonsvis innarbeides 100 g pudder-sukker og 5 g vaniljesukker. Skummassen formes med krem-sprøyte og bakes 75 minutter ved 120°C.

10

Den således dannede marengs utmerker seg ved jevn finporet struktur og artstypisk smak.

Eksempel 12

15

Av det fra eksempel 4 og 5 fremstilte retentat fra membranfiltreringen fremstilles en 1-2 %-ig (g/g) oppløsning i vann.

20

15 ml av denne oppløsning utrøres med en halv teskje salt, 1 dråpe eddik og en ½ teskje sennep og deretter innarbeides porsjonsvis tilsammen 125 ml planteolje under sterk omrøring med en husholdningsblander.

25

Den således fremstilte salatmajones er en fullstendig homogen emulsjon med høy stabilitet uten uheldig sensoriske egenskaper.

30

35

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte til fremstilling av funksjonelt hydrolysat med et proteininnhold over 90 vekt-%, et nukleinsyreinnhold under 2 vekt-%, et lipidinnhold under 1 vekt-%, en suspenderbarhet på 80-100%, et skumningstall på 4-7, en halveringstid for skummet på 10-300 minutter, en emulsjonskapasitet på 300-500 ml olje/g protein og en molekylvekt mellom 125.000 og 100 Dalton fra et mikrobielt proteinisolat ifølge hvilke proteinisolatet først ekstraheres med en i det vesentlige vannfri blanding av metanol og ammoniakk for minskning av lipidinnholdet og deretter med vann for minskning av nukleinsyreinnholdet,
- k a r a k t e r i s e r t v e d at det oppnådde protein-materialet deretter hydrolyseres enzymatisk ved hjelp av en eller flere endoproteaser til det funksjonelle hydrolysat, hvoretter dette hydrolysat eventuelt oppdeles i en fraksjon (A) som med ellers samme egenskaper som det nevnte hydrolysat har
- en oppløselighet på 100%,  
et skumningstall på 9-16,  
en halveringstid for skummet på 20-120 minutter,  
en emulsjonskapasitet på 30-60 ml olje/g protein og  
en molekylvekt mellom 5.000 og 100 Dalton,
- og en fraksjon (B) som ved ellers like egenskaper som det nevnte hydrolysat har
- en suspenderbarhet på 70-90%,  
et skumningstall på 1-3,  
en halveringstid for skummet på 2-1000 minutter,  
en emulsjonskapasitet på 400-800 ml olje/g protein og  
en molekylvekt mellom 125.000 og 5000 Dalton,
- ved ultrafiltrering, idet fraksjon (A) fåes som permeat og fraksjonen (B) som retentat.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
k a r a k t e r i s e r t v e d at fraksjonering av  
det funksjonelle hydrolysatet gjennomføres uten å isolere  
dette ved hjelp av en membranreaktor, idet fraksjonen (A) fåes  
5 som permeat og fraksjon (B= som retentat.

10

15

20

25

30

35