



AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP A 23 J / 296 933 5

(22) 02.12.86

(44) 17.02.88

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Otto-Nuschke-Straße 22–23, Berlin, 1080, DD

(72) Schwenke, Klaus Dieter, Prof. Dr. sc. Dipl.-Chem.; Mothes, Ralf, Dipl.-Lebensmittelchem.; Beyer, Helga; Augustat, Doris; Zirwer, Dietrich, Dr. Dipl.-Phys.; Gast, Klaus, Dr. Dipl.-Phys., DD

(54) Verfahren zur Modifizierung der Eigenschaften von Pflanzenproteinen

(55) Pflanzenproteine, Ölsamenproteine, Körnerleguminosen-Proteine, Rapssamen, Modifizierung von Proteineigenschaften, phosphatgruppenhaltige Polyanionen, Protein-Polyanionen-Komplex

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Modifizierung der funktionellen Eigenschaften von Pflanzenproteinen, insbesondere von Ölsamen- und Körnerleguminosen-Proteinen, für Nahrungszwecke. Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein einfaches, allgemein anwendbares Verfahren zur gezielten Modifizierung der Eigenschaften von Pflanzenproteinen für Nahrungszwecke zu entwickeln, das die Möglichkeit einer Einstellung und Regulierung funktioneller Eigenschaften bietet. Wesentlich für das erfindungsgemäße Verfahren ist, daß die Proteine durch Wechselwirkung mit einem definierten Anteil phosphatgruppenhaltiger Polyanionen bei festgelegtem pH-Wert und vorgegebener Temperatur modifiziert werden. Die eingesetzte Menge an Polyanion entspricht dabei 0,01 bis 0,5, vorzugsweise 0,03 bis 0,1 Massenanteilen des Proteins. Gegebenenfalls wird die Komplexbildung zwischen dem Protein und dem Polyanion mit einer extraktiven Entfernung natürlich verbundener phosphatgruppenhaltiger Polyanionen, wie Phytinsäure, kombiniert.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Modifizierung der Eigenschaften von Pflanzenproteinen, **dadurch gekennzeichnet**, daß Pflanzenproteine mit definierten Anteilen an phosphatgruppenhaltigen Polyanionen zur Wechselwirkung gebracht werden und diese Anteile 0,01 bis 0,5 Massenanteilen, vorzugsweise 0,03 bis 0,1 Massenanteilen, des Proteins entsprechen, wobei diese Anteile durch Behandlung einer wäßrigen Lösung des Proteins mit den Polyanionen gegebenenfalls in Kombination mit einer mehr oder weniger weitgehenden extraktiven Entfernung natürlich vorhandener phosphatgruppenhaltiger Polyanionen während der Gewinnung des Proteins, bei festgelegtem pH-Bereich und Temperaturregime eingestellt wird, wonach der entstandene Protein-Polyanionen-Komplex in Lösung oder in getrocknetem Zustand weiterverarbeitet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Proteine aus phytinsäurehaltigem Pflanzenmaterial, insbesondere Rapssamen oder Sojabohnen, isoliert werden und der Phytinsäuregehalt im Protein durch wäßrige Extraktion auf Werte gesenkt wird, die im Bereich des angegebenen Masseanteils des phosphatgruppenhaltigen Polyanions am Protein oder darunter liegen.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das phosphatgruppenhaltige Polyanion ein lineares cyclisches Polyphosphat oder Polyphosphorsäureester mit mindestens 4 Phosphorsäureresten im Molekül ist.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Proteine durch kombinierte Wirkung von Octametaphosphat und Phytinsäure modifiziert werden.
5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Behandlung des Proteins mit dem Polyanion im pH-Bereich zwischen 2,0 und 9,5, vorzugsweise zwischen pH 3,5 und 8,0, Temperaturbereich zwischen 10 und 80°C, vorzugsweise zwischen 20 und 60°C, vorgenommen wird.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Modifizierung der funktionellen Eigenschaften von Pflanzenproteinen, insbesondere von Ölsamen- und Körnerleguminosen-Proteinen für Nahrungszwecke.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Die Einsatzmöglichkeiten von Pflanzenproteinen als Nahrungsrohstoffe werden nicht allein vom Nährwert sondern auch von den funktionellen Eigenschaften der Proteine bestimmt.

Diese hängen in hohem Maße von der Technologie der Proteingewinnung ab, die die native Proteinstruktur aller oder weniger verändern und Wechselwirkungen der Proteine mit anderen Inhaltsstoffen des pflanzlichen Rohmaterials begünstigen oder in begrenztem Ausmaß auch verhindern kann (K. D. Schwenke, Ernährungsforschung **27**, S. 50 [1982]).

So führt die isoelektrische Fällung von Pflanzenproteinen in saurem Milieu zur Bildung schwerlöslicher Komplexe mit Phytinsäure, meso-Inositolhexaphosphat, einem weitverbreiteten Pflanzeninhaltsstoff, (J. A. Maga, J. Agric Food Chemistry **30**, 1 [1982]; L. Gollberg u. B. Törnell, J. Food Science, **41**, 1063 [1976]; K. D. Schwenke, K. Elkowicz u. H. Kozłowska, Nahrung, **23** 967 [1979]) und zur Verschlechterung der funktionellen Eigenschaften der Proteine. Die unkontrollierte Wechselwirkung pflanzlicher Proteine mit Phytinsäure und anderen Pflanzeninhaltsstoffen stellt somit erhebliche Probleme bei der Gewinnung von Proteinpräparaten mit gleichbleibenden funktionellen Eigenschaften.

Bekannte Verfahren zur Entfernung der Phytinsäure aus pflanzlichem Material wie z. B. Rapsschrot (DT-OS 2522991, DD 224210 A 1) sind vorzugsweise unter ernährungsphysiologischen Aspekten vorgeschlagen worden, da Phytinsäure die Verfügbarkeit essentieller Metallionen herabsetzt.

Die genannten Verfahren beschreiben die Gewinnung von Rapsproteinen mit geringem Phytinsäuregehalt, die günstige funktionelle Eigenschaften besitzen sollen. Sie enthalten jedoch keine Lehre zur Erzielung von Produktion mit bestimmten funktionellen Eigenschaften bzw. zur Regulierung derselben.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein einfaches, allgemein anwendbares Verfahren zur gezielten Modifizierung der Eigenschaften von Pflanzenproteinen für Nahrungszwecke zu entwickeln. Der Erfindung liegt demzufolge die Aufgabe zugrunde, die speziellen Bedingungen für ein derartiges Verfahren aufzuzeigen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß die Wechselwirkung zwischen Pflanzenproteinen und phosphatgruppenhaltigen Polyanionen zur Regulierung der funktionellen Eigenschaften der Proteine ausgenutzt wird, indem ein definiertes Verhältnis zwischen dem jeweiligen Protein und dem Polyanion unter festgelegten pH- und Temperaturbedingungen eingestellt und der entstandene Protein-Polyanion-Komplex ohne Veränderung der Zusammensetzung an den beiden Hauptkomponenten weiterverarbeitet wird. Es wurde nämlich gefunden, daß die Wechselwirkung zwischen Pflanzenproteinen und dem genannten Polyanionen-Typ in mehreren Phasen verläuft, wobei lösliche und unlösliche Komplexe gebildet werden, und daß bei einem bestimmten Verhältnis beider Komponenten besonders günstige funktionelle Eigenschaften resultieren.

Dabei beträgt der Anteil des Polyanions 0,01 bis 0,5 Masseteile, vorzugsweise aber 0,03 bis 0,1 Masseteile des Proteins. Als Polyanion kann Phytinsäure eingesetzt werden. Im Hinblick auf den möglichen antinutritiven Effekt derselben wird diese jedoch zweckmäßig durch andere phosphatgruppenhaltige Polyanionen ersetzt. Es wurde nämlich gefunden, daß lineare oder zyklische Poly- oder Metaphosphate für eine gezielte Beeinflussung der funktionellen Eigenschaften der Proteine in ähnlicher Weise wie Phytinsäure eingesetzt werden können, wenn sie eine Mindestzahl von 4 monomeren Phosphateinheiten besitzen. Zur Erzielung reproduzierbarer Eigenschaften der Proteine ist es notwendig, im Falle phytinsäurehaltiger Rohstoffe den natürlichen Phytinsäuregehalt mittels wäßriger Extraktion bei festgelegtem pH-Wert auf ein definiertes, jedoch akzeptables Maß herabzusetzen oder die Phytinsäure zu entfernen, wofür sich die oben genannten Verfahren ebenso wie andere Verfahren, z. B. die Ultrafiltration, eignen. Das phytinsäurearme oder phytinsäurefreie Protein wird sodann im pH-Bereich zwischen 2,0 und 9,5, vorzugsweise zwischen pH 3,5 und 8,0 und im Temperaturbereich zwischen 10 und 80°C, vorzugsweise zwischen 20 und 60°C mit dem Poly- oder Metaphosphat behandelt und der gebildete Komplex sodann in wäßriger Lösung oder in getrocknetem Zustand weiterverarbeitet.

Mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens gelingt es, hitzestabile Proteinkomplexe zu erzeugen, deren wäßrigen Lösungen während einer Verarbeitung bei höheren Temperaturen klar bleiben. Andererseits können unlösliche Protein-Polyanionen-Komplexe erfindungsgemäß durch Erhitzen in einen löslichen Zustand übergeführt werden, der bei höherer Temperatur beständig ist. Auf diese Weise können unerwünschte Koagulationseffekte bei der Verarbeitung von Proteinen vermieden werden. Obwohl das erfindungsgemäße Verfahren auf einer elektrostatischen Wechselwirkung zwischen Protein und Polyanion beruht, deren Stöchiometrie von strukturellen Besonderheiten des jeweiligen Proteins abhängt, ist es auf Proteine unterschiedlicher Struktur und Zusammensetzung übertragbar und somit allgemein einsetzbar. Dementsprechend lassen sich die funktionellen Eigenschaften so unterschiedlicher Proteine wie der hochmolekularen 11-S-Globuline aus Rapssamen, Ackerbohnen oder Sojabohnen einerseits auch der niedermolekularen basischen sogenannten Albuminfraction aus Rapssamen andererseits durch Wechselwirkung mit phosphatgruppenhaltigen Polyanionen unter den angegebenen Bedingungen modifizieren und regulieren.

Die Erfindung soll anhand der folgenden Ausführungsbeispiele näher erläutert werden.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Rapsglobulin wurde wie von Raab und Schwenke (B. Raab u. K. D. Schwenke, Nahrung 28, 863 [1984]) beschrieben durch Extraktion von entfettetem Rapsmehl mit Phosphatpuffer von pH 8 und nachfolgende Ammoniumsulfatfällung gewonnen. Der Phytinsäuregehalt des Trockenpräparates betrug 0,3%. 1 g des Proteins werden bei Zimmertemperatur in 100 ml Citratpuffer von pH 5 gelöst. In einer zweiten Lösung wurde der Phytinsäuregehalt durch Zusatz von Natriumphytat auf 4,1%, bezogen auf die gelöste Proteinmenge, entsprechend einer Konzentration von 0,041%, eingestellt. Der Verlauf der Emulgierkurven beider Proteinlösungen ist in Abb. 1 dargestellt.

Während das phytinsäurearme Protein einen Sättigungswert bei einer Proteinkonzentration von 0,2 bis 0,3 g pro 100 ml erreicht, nimmt die Emulgierkapazität des Protein-Phytinsäure-Komplexes innerhalb des untersuchten Konzentrationsbereiches stetig zu. Analoge Ergebnisse wurden nach Ersatz der Phytinsäure durch Natriumoctametaphosphat erhalten.

Beispiel 2

Rapsalbumin wurde nach dem in Beispiel 1 zitierten Verfahren durch Extraktion von entfettetem Rapsmehl mit Phosphatpuffer, pH 8, und nachfolgende Fraktionierung mittels Ammoniumsulfat gewonnen. Der Phytinsäuregehalt des Trockenpräparates war 1%. Zur Bestimmung der emulsionsstabilisierenden Wirkung wurde eine 5%ige wäßrige Lösung des Proteins mit einem pH-Wert von 7 bereitet. Eine zweite Lösung enthält 5% Protein und 1% Phytinsäure (Protein:Phytinsäure = 1:0,2).

Die erhaltenen Werte für die Emulsionsstabilität betragen 74% für das Protein und 88% für den Protein-Phytinsäure-Komplex. Eine Steigerung des Wertes für die Emulsionsstabilität auf 90% läßt sich bei Ersatz der Phytinsäure durch Natriumoctametaphosphat erzielen.

Beispiel 3

Eine 1%ige wäßrige Lösung von Rapsalbumin wurde bei pH 8 mit Natriumoctametaphosphat (Protein-Metaphosphat-Verhältnis = 1:0,5) versetzt. Die klare Lösung wurde durch Zugabe von 0,1 N-Salzsäure gebracht, wobei ein Protein-Metaphosphat-Komplex ausfiel. Es wurde auf eine Proteinkonzentration von 0,5% verdünnt und das System auf 45 bis 55°C

erwärmt, wobei sich der Komplex auflöste und die Lösung klar wurde. Bei langsamen Abkühlen schied sich der Komplex feinverteilt aus.

Beispiel 4

Eine 1%ige wäßrige Rapsalbuminlösung wurde bei Zimmertemperatur und pH 8 mit steigenden Mengen Natriumoctametaphosphat versetzt, wobei in Abhängigkeit von der Polyanion-Menge zunächst eine Präzipitation, Solubilisierung eintrat. Stufenweises Erhitzen zeigte einen hitzestabilisierenden Effekt des Polyphosphates, der von dessen Konzentration im System bestimmt wurde. Zum quantitativen Vergleich dieses Effektes wurde das System vor dem Erhitzen auf eine Konzentration von 0,3% Protein eingestellt und die bei verschiedenen Temperaturen behandelten Proben nach dem Abkühlen turbidimetrisch gemessen. Das Ergebnis ist graphisch in Abb. 2 dargestellt. Es belegt den Solubilisierungseffekt des Polyanions im Temperaturbereich zwischen 20 und 80°C bei Protein-Polyanion-Verhältnissen von 1:0,05 bis 1:0,1.

Emulgierkapazität von Rapsglobulin(•)
und von einem Rapsglobulin-Phytin-
säure-Komplex mit 4% Phytinsäure(x).

Ölverbrauch (%)

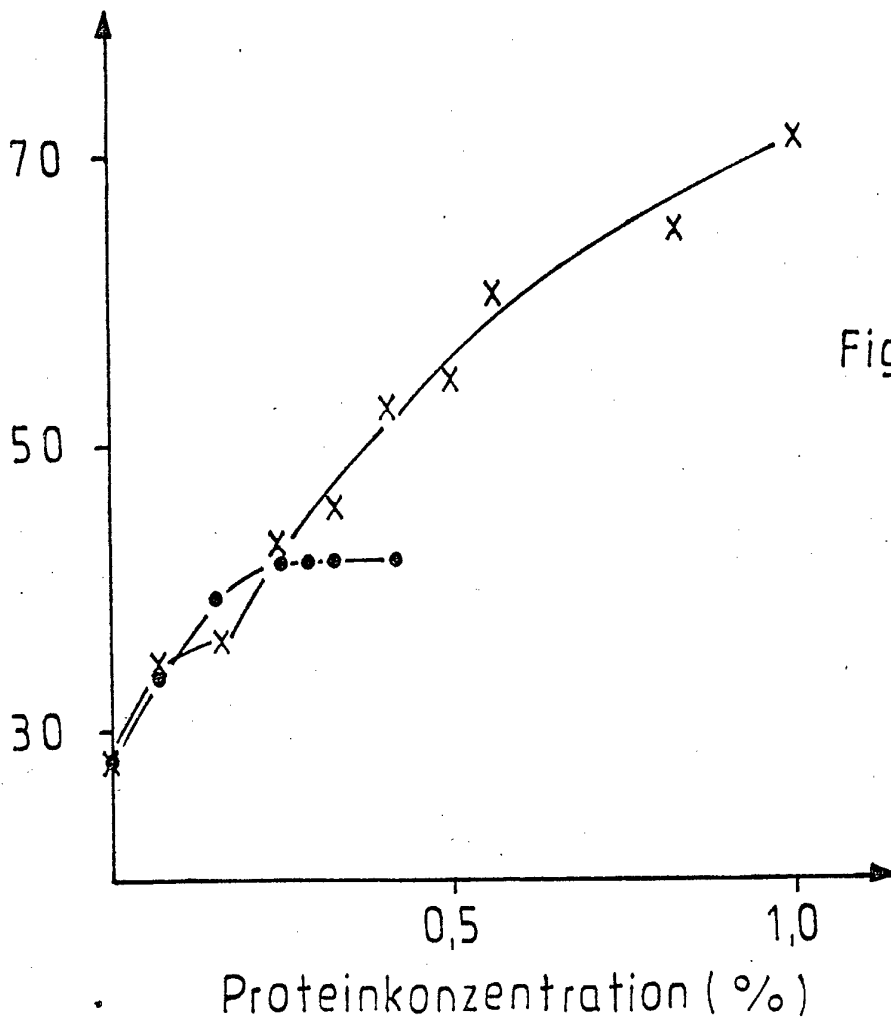


Fig.1

Hitzekoagulation von Rapsalbumin und Rapsalbumin-Octametaphosphat- Komplexen

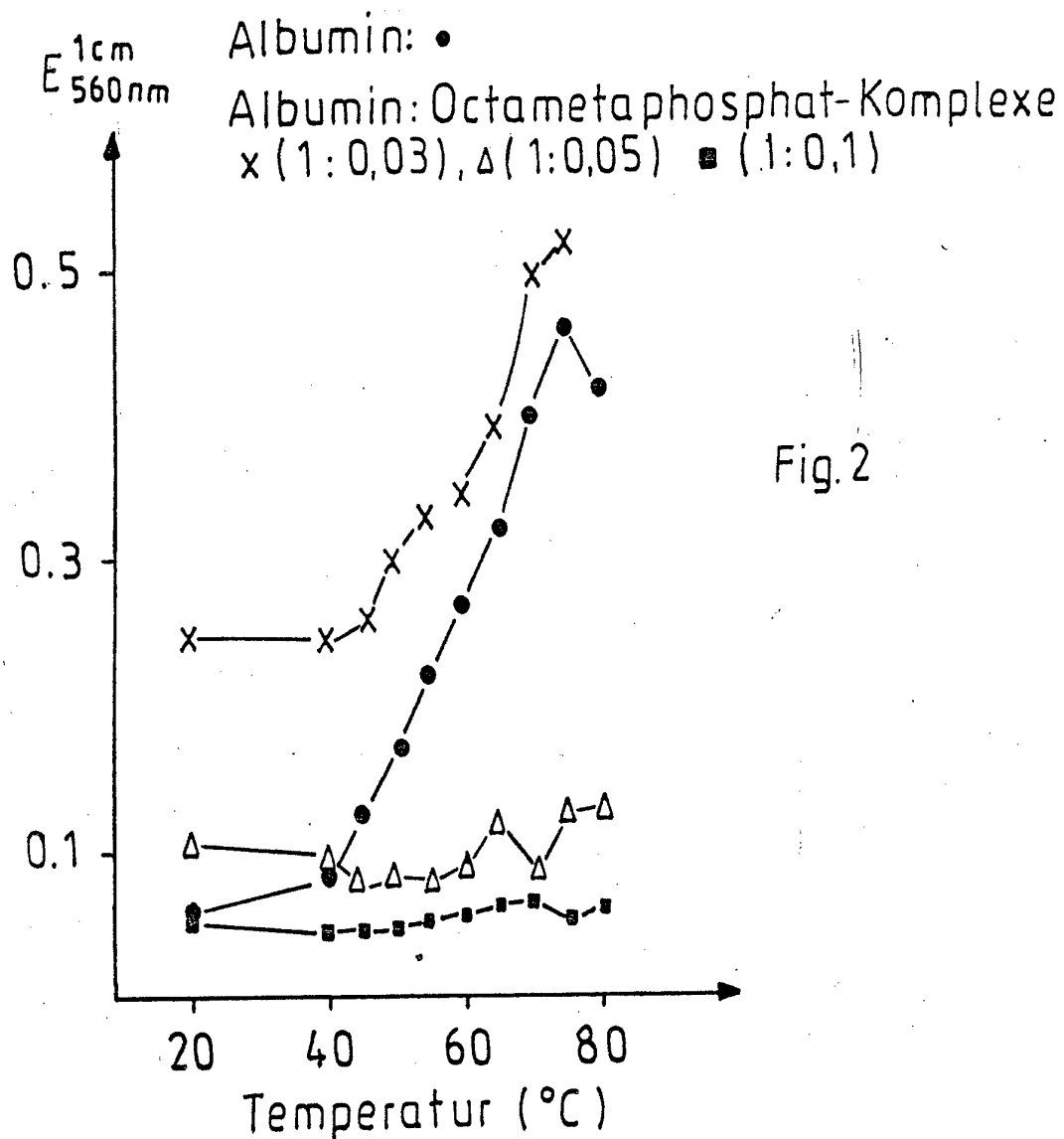


Fig. 2