



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 662 706 A5

⑤① Int. Cl.⁴: A 23 F 3/18

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer:	2136/84	㉗ Inhaber:	Novo Industri A/S, Bagsvaerd (DK)
㉔ Anmeldungsdatum:	02.05.1984		
㉓ Priorität(en):	03.05.1983 US 491183	㉘ Erfinder:	Petersen, Bent Riber, Kopenhagen (DK)
㉔ Patent erteilt:	30.10.1987		
㉕ Patentschrift veröffentlicht:	30.10.1987	㉙ Vertreter:	Dr. A. R. Egli & Co., Patentanwälte, Zürich

⑤④ **Enzymatisches Verfahren zur Herstellung von Instant-Tee.**

⑤⑦ Zur Herstellung von Instant-Tee bedient man sich eines Verfahrens, bei welchem Teeblätter vor oder während der Extraktion mit einer SPS-ase-Zubereitung behandelt werden, wodurch die Extraktausbeute verbessert wird.

PATENTANSPRÜCHE

1. Enzymatisches Verfahren zur Herstellung von Instant-Tee, dadurch gekennzeichnet, dass die Teeblätter in einem wässrigen Medium vor und/oder während der Extraktion der Teeblätter mit einer SPS-ase-Zubereitung in einer Konzentration, die ausreicht um die Extraktausbeute zu verbessern, behandelt werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine SPS-ase-Zubereitung von *Aspergillus aculeatus* CBS 101.43 verwendet.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass während der Behandlung mit der SPS-ase die minimale Anfangskonzentration der SPS-ase-Zubereitung einer SPS-ase-Aktivität von 10^{-3} SPSE/g Teeblätter, vorzugsweise 10^{-2} SPSE/g Teeblätter, entspricht.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass während der Behandlung mit der SPS-ase-Zubereitung die Anfangskonzentration der SPS-ase einer SPS-ase-Aktivität zwischen $0,5 \times 10^{-1}$ und 5×10^{-1} SPSE/g Teeblätter entspricht.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Behandlung mit der SPS-ase bei einer Temperatur zwischen 40 und 70 °C, vorzugsweise zwischen 40 und 50 °C, durchgeführt wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Dauer der Enzymbehandlung lange genug ist, um die maximale Extraktausbeute sicherzustellen.

Die Herstellung von Instant-Tees, insbesondere von in kaltem Wasser löslichen Instant-Tees, ist zum Beispiel in World Coffee & Tea, April 1972, Seiten 54 bis 57, beschrieben.

Die Wirtschaftlichkeit von Instant-Tee hängt in starkem Masse von der Extraktausbeute ab. Zum Stand der Technik zählen verschiedene Verfahren zur Herstellung von Instant-Tee, welche eine Enzymbehandlung einschliessen, zum Beispiel mit herkömmlichen Pectinasen, Cellulasen, Amylasen und Proteasen; es wird hierzu auf die DE-PS 2 229 401, SU-PS 683 709, GB-PS 1 459 529 und JP-OS 7 110 919 verwiesen. Aufgrund der verhältnismässig niedrigen Extraktausbeuten bei den bekannten Verfahren zur Herstellung von Instant-Tees, einschliesslich der in den zum Stand der Technik erwähnten, oben angegebenen Patenten oder Patentanmeldungen beschriebenen, ist die Extraktausbeute verbesserungsbedürftig.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass die Extraktausbeute von Instant-Tees drastisch verbessert werden kann, wenn die Teeblätter mit einem Enzym, welches zu einer definierten Kategorie gehört, behandelt werden.

So wurde gemäss der Erfindung ein enzymatisches Verfahren zur Herstellung von Instant-Tee gefunden, das dadurch gekennzeichnet ist, dass die Teeblätter in einem wässrigen Medium vor und/oder während der Extraktion der Teeblätter mit einer SPS-ase-Zubereitung (SPS = soluble polysaccharide), wie in der BE-PS 895 430 definiert, in einer Konzentration, die ausreicht, um die Extraktausbeute zu verbessern, behandelt werden.

Unter «Teeblätter» sind sowohl frische Teeblätter als auch Teeblätter, welche einer oder mehreren der Behandlungen, welche in der einschlägigen Technik als Welken, Rollen, Fermentieren und Rösten bezeichnet werden, unterworfen worden sind. Die Erfindung ist demnach für alle bekannten Formen von im Handel erhältlichen Teeblättern, wie grünem Tee, Oolongtee und schwarzem Tee, anwendbar.

Die Enzymbehandlung wird vorzugsweise bei dem «natürlichen» pH-Wert, das heisst bei dem natürlicherweise in der wässrigen Teesuspension auftretenden pH-Wert, durchgeführt. Wird eine Einstellung des pH-Wertes vorgenommen, zum Beispiel aufgrund einer grossen Diskrepanz zwischen dem «natürlichen» pH-Wert und dem optimalen pH-Wert der SPS-ase-Zubereitung, so sollte dafür Sorge getragen werden, dass eine möglichst kleine Menge Puffer verwendet wird. Andernfalls wird sich eine zu grosse Menge an Puffersalzen den löslichen Teeprodukten zugesellen und später als unerwünschte Komponente des trockenen Instant-Tees erscheinen.

Aus den folgenden Beispielen ist ersichtlich, dass es möglich ist, mit mässigen Mengen an Enzym, welche zu dieser speziellen Kategorie gehören, die Extraktausbeute um einen Faktor oberhalb 2,0 zu erhöhen.

Bei einer bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemässen Verfahrens wird eine SPS-ase-Zubereitung verwendet, die auf der Basis von *Aspergillus aculeatus* CBS 101.43 erzeugt werden kann. CBS bedeutet Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Niederlande. Mit Hilfe dieses Enzyms ist es möglich, sehr hohe Werte der Extraktausbeute zu erhalten.

Gemäss einer anderen bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemässen Verfahrens entspricht die minimale Anfangskonzentration der SPS-ase einer SPS-ase-Aktivität von 10^{-3} SPSE/g Teeblätter, vorzugsweise 10^{-2} SPSE/g Teeblätter, während der Behandlung mit der SPS-ase-Zubereitung. Die Einheit der SPS-ase-Aktivität, hierin als SPSE bezeichnet, ist in der BE-PS 895 430 definiert. Mit Hilfe dieser Ausgestaltung sind sehr hohe Extraktausbeuten erhältlich.

Gemäss einer anderen bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemässen Verfahrens entspricht die Anfangskonzentration der SPS-ase-Zubereitung während der Behandlung mit der SPS-ase-Zubereitung einer SPS-ase-Aktivität zwischen $0,5 \times 10^{-1}$ und 5×10^{-1} SPSE/g Teeblätter. Diese entspricht für gewöhnlich dem optimalen Aktivitätsniveau für die SPS-ase-Zubereitung, wodurch ein wirtschaftliches Verfahren mit hohen Ausbeuten und kurzer Behandlungsdauer geschaffen wird.

Gemäss einer anderen bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemässen Verfahrens wird die Behandlung mit der SPS-ase-Zubereitung bei einer Temperatur zwischen 40 und 70 °C, vorzugsweise zwischen 40 und 50 °C, durchgeführt. Auf diese Weise wird eine hohe enzymatische Aktivität in Verbindung mit einer vernünftigen guten Enzymstabilität erhalten, wodurch eine hohe Extraktausbeute nach einer verhältnismässig kurzen Behandlungsdauer mit Enzym erhalten werden kann.

Gemäss einer anderen bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemässen Verfahrens ist die Dauer der Behandlung mit dem Enzym lange genug, um eine maximale Extraktausbeute sicherzustellen. Offensichtlich hängt die kürzeste Enzym-Behandlungsdauer, durch welche die maximale Extraktausbeute sichergestellt wird, von der Dosierung des Enzyms und der Temperatur ab. Diese Zeit wird mit abnehmender Enzymdosierung und abnehmender Temperatur länger.

Diese Dauer hängt ausserdem von der Feinheit oder der spezifischen Oberfläche der Teeblätter oder der zerkleinerten Teeblätter, welche einer Enzymbehandlung unterworfen werden, ab. Unter normalen Arbeitsbedingungen ist eine Behandlungsdauer von einigen Stunden, zum Beispiel 2 bis 10 Stunden, für fein zerkleinerten Tee geeignet. Eine Behandlungsdauer von 20 Stunden wird als ausreichend für alle Arten von Tee betrachtet.

Gewünschtenfalls kann die SPS-ase-Aktivität inaktiviert werden, zum Beispiel durch eine Wärmebehandlung, wenn die maximale Extraktausbeute erreicht ist.

Das erfindungsgemäße Verfahren, welches sich auf die erste Stufe der Herstellung von Instant-Tee bezieht, kann in Kombination mit den folgenden Stufen bei allen Methoden zur Herstellung von Instant-Tee angewendet werden, siehe beispielsweise den im Vorhergehenden erwähnten Artikel in World Coffee & Tea.

Im folgenden wird die Erfindung anhand der Beispiele erläutert.

Die Spezifizierungen und Aktivitätsbestimmungen in bezug auf die verwendeten bekannten Enzyme als Repräsentanten für zum Stande der Technik gehörende Verfahren in Beispiel 1, zum Beispiel Neutrase 0,5 L, Cereflo 200 L und Pectinex 1 x L sind in den von Novo Industri A/S, Novo Alle, 2880 Bagsvaerd, Dänemark, erhältlichen Broschüren angegeben, und zwar Neutrase in B213b-GB 2000 März 81, Cereflo in B214b-GB 1500 Juli 1981 und Pectinex in B235b-GB 1500 September 1982.

Die in den folgenden beiden Beispielen verwendete SPS-ase-Zubereitung wurde in der folgenden Weise hergestellt. Die Fermentation wurde mit dem Mikroorganismus *Aspergillus aculeatus* CBS 101.43 in der gleichen Weise wie in der BE-PS 895 430 in Beispiel 2 beschrieben, durchgeführt. Die Kulturbrohe wurde einer Trommelfiltration unterworfen, das Filtrat durch Eindampfen eingengt und nacheinander einer Rückfiltration, Ultrafiltration, Rückfiltration und Sterilfiltration unterworfen. Die keimfreie Flüssigkeit, welche 7% Trockensubstanz enthielt, wurde zweimal in der folgenden Weise mit einer Base behandelt: Einstellung des pH-Wertes auf 9,2 mit NaOH bei 5 bis 10 °C (eine Stunde), danach erneute Einstellung des pH-Wertes auf 5,8 mit Essigsäure. Zwischen den beiden Basenbehandlungen wurde eine Ultrafiltration durchgeführt. Die resultierende Lösung wurde nach der zweiten Basenbehandlung gefriergetrocknet. Die SPS-ase-Aktivität der gefriergetrockneten SPS-ase-Zubereitung betrug 354 SPSE/g. Die Definition der Einheit der SPS-ase-Aktivität ist in der BE-PS 895 430 beschrieben. Aufgrund der Tatsache, dass die SPS-ase-Zubereitung einer Basenbehandlung unterworfen wurde, ist die Proteaseaktivität dieser Zubereitung reduziert. Die Erfindung schließt jedoch die Verwendung einer SPS-ase-Zubereitung mit ihrer ursprünglichen Protease-Aktivität in gleicher Weise ein.

Beispiel 1

Um die Verbesserung der Extraktionsausbeute zu zeigen, wurde eine Reihe von Extraktionen von Teeblättern durchgeführt, wonach die Tee-Extrakte aus den Versuchen gefriergetrocknet und wieder aufgelöst oder aufgeschlämmt wurden, was immer der Fall sein mochte. Dann wurde die Trübung der Lösungen bei 3 Extraktpulver-Konzentrationen

gemessen, wobei ein Trübungsmesser TRM-L, hergestellt und im Handel von M. R. Drott K.G., A-1015 Wien, Johannesgasse 18, Österreich, verwendet wurde.

Die Werte der Parameter während der Extraktionsversuche sind im folgenden angegeben.

Incubation:

50 g Schwarzteeblätter (Assam fein) Trockensubstanz (TS): 93,4%

100 ml Enzymlösung

40 °C

20 Stunden

kein Rühren. Das Sinkverhältnis schien gerade ausreichend für eine vollständige Benetzung der Teeblätter.

Enzyme:

Neutrase 0,5 L (52 BGU/g)

Cereflo 200 L

Pectinex 1 x L

SPS-ase-Zubereitung.

Enzymdosierung:

Für Neutrase und Cereflo:

10, 50, 250, 500, 1000 und 2000 mg; 100 ml Lösung, annähernd entsprechend 0,02, 0,1, 0,5, 1, 2 und 4% (Gewicht/Gewicht) Trockensubstanz.

Für Pectinex:

500, 1000 und 2000 mg/ml Lösung oder 1, 2 und 4% (Gewicht/Gewicht) Trockensubstanz.

Für die SPS-ase-Zubereitung waren die Dosierungen die folgenden:

30 0,1, 1,0, 10, 50 und 250 mg/100 ml entsprechend 0,0002,

0,002, 0,02, 0,1 und 0,5% (Gewicht/Gewicht) Trockensubstanz.

Extraktion:

35 300 ml deionisiertes Wasser

70 °C

10 Minuten

Rühren: Propellerrührer

Filtration:

Filtration unter Vakuum mittels eines Büchner-Trichters bei thermostatisch geregelter Temperatur von 70 °C.

Analysen:

45 2 x 5 ml eines jeden Filtrates (Extrakt) wurden als Proben für die Bestimmung der Trockensubstanz verwendet.

Bestimmung des Extraktgewichtes.

Extrakte wurden gefriergetrocknet (Gewicht bestimmt), wieder gelöst und einer Trübungsmessung (TU) bei einer Trockensubstanzkonzentration von 1,0 g Pulver/100 ml Raumtemperatur.

Die Resultate sind der unten gezeigten Tabelle zu entnehmen.

Enzym	Probe Nr.	Enzymdosierung		% Trocken-substanz im Extrakt	Extraktausbeute		Trübung TU bei 1 g Extrakt-pulver 100 ml
		mg/100 ml	% (Gewicht/Gewicht) bezogen auf TS Tee		ml	g gefrier-getrocknet	
keines		0	0	3,6	204	6,7	309
Neutrase 0,5 L	1	10	0,02	2,9	206	5,4	
	2	50	0,1	3,6	176	6,1	
	3	250	0,5	3,6	188	5,7	
	4	500	1	3,7	212	7,1	280
	5	1000	2	3,8	204	7,4	239
	6	2000	4	3,7	194	6,6	307

Enzym	Probe Nr.	Enzymdosierung		% Trocken- substanz im Extrakt	Extraktausbeute		Trübung TU bei 1 g Extrakt- pulver/100 ml
		mg/100 ml	% (Gewicht/Gewicht) bezogen auf TS Tee		ml	g gefrier- getrocknet	
Cere- flo 200 L	1	10	0,02	3,7	159	5,8	367
	2	50	0,1	3,6	191	6,4	291
	3	250	0,5	3,9	175	6,2	331
	4	500	1	3,5	220	7,9	212
	5	1000	2	3,5	209	7,5	238
	6	2000	4	3,8	205	7,3	206
Pectinex 1 × L	1	500	1	4,6	272	12,4	146
	2	1000	2	4,7	260	10,7	152
	3	2000	4	4,9	290	13,3	139
SPS- ase	1	0,1	0,0002	3,5	184	6,8	273
	2	1	0,002	4,3	228	10,9	168
	3	10	0,02	4,6	295	13,4	148
	4	50	0,1	4,9	285	13,4	82
	5	250	0,5	5,3	294	15,0	69

Aus der obenstehenden Tabelle ist ersichtlich, dass der erfindungsgemäss hergestellte Instant-Tee ausgezeichnete Extraktausbeuten und Trübungswerte aufweist. So beträgt die Extraktausbeute, gemessen in bezug auf die Menge gefriergetrockneten Materials, bei einer (mässigen) Enzymdosierung von 0,5 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Tees als Trockensubstanz, $15,0 \times 100/6,7$ oder 224% des Extraktes ohne Enzymbehandlung und ist somit weit besser als die entsprechende Zunahme der Extraktausbeute mit herkömmlichen Enzymen bei vergleichbaren Enzymdosierungen. Darüber hinaus beträgt die Trübung, die so niedrig wie möglich sein sollte, bei der gleichen (mässigen) Enzymdosierung von 0,5 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Tees als Trocken-

substanz, wie oben angegeben, nur $69 \times 100/309$ gleich 22% der Trübung ohne Enzymbehandlung.

25

Beispiel 2

Es wurde eine Reihe von Extraktionen ähnlich den Reihen von Extraktionen in Beispiel 1 durchgeführt, mit der Ausnahme, dass keine vergleichenden Enzymbehandlungen mit Neutrase 0,5 L, Cereflo 200 L und Pectinex 1 × L in diesem Beispiel durchgeführt wurden, das heisst lediglich Enzymbehandlungen mit der SPS-ase-Zubereitung wurden durchgeführt.

Die Ergebnisse sind aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

35

Enzymdosierung Gewichtsprozent bezogen auf Gewicht des Tees als Trockensubstanz	% Trocken- substanz im Extrakt	Extrakt- ausbeute, g gefrier- getrocknet	Trübung TU bei 1 g Extrakt/100 ml
	Assam fein	Assam fein	Assam fein
0	3,6	6,7	309
0,0002	3,5	6,8	273
0,002	4,3	10,9	168
0,02	4,6	13,4	148
0,1	4,9	13,4	82
0,5	5,3	15,0	69

Aus der obenstehenden Tabelle ist ebenfalls die durch die Verwendung der SPS-ase hervorgerufene dramatische Auswirkung auf die Extraktausbeute ersichtlich. Ausserdem ist

aus der obenstehenden Tabelle ersichtlich, dass die Trübung des fertiggestellten Instant-Tees in wässrigen Medien einen brauchbaren niedrigen Wert aufweist.

55

60

65