



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11) **208 545**

Int. Cl.³

3(51) A 23 L 1/226
A 23 C 19/032

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP A 23 L/ 2418 637

(22) 22.07.82

(44) 04.04.84

(71) siehe (72)

(72) KUNZ, BENNO, DR.; RUTTLOFF, HEINZ, PROF. DR. DIPL.-LEBENSMITTELCHEM.;
ROTHER, MANFRED, DR. DIPL.-CHEM.; LEUCHTENBERGER, ANDREAS, DR. DIPL.-BIOL.;
QUEHL, ADELHEID, DIPL.-BIOL.; ENGST, WOLFRAM; BIRNBAUM, ANITA, DIPL.-BIOCHEM.;
HERRMANN, HEINRICH, DR., DD

(73) siehe (72)

(74) DR. BENNO KUNZ, VEB OSTRA, 8020 DRESDEN, W.-FRANKE-STRASSE 67

(54) **VERFAHREN ZUR ENZYMATISCH-MIKROBIELLEN GEWINNUNG VON AROMASTOFFEN**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von Aromastoffen auf enzymatisch-mikrobiellem Weg. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur ökonomischen und umweltfreundlichen Herstellung von Käsearoma auf enzymatisch-mikrobiellem Weg zu schaffen und die Verfahrensbedingungen zur Erhöhung der Effektivität darzulegen. Dies wird dadurch erreicht, daß in einer Fermentationsanlage eine Fermentationsbrühe als Startmedium durch ein oder mehrere Mikroorganismenspecies geimpft und bis zum Abschluß der Aromabildung fermentiert wird, der zuvor zusätzlich eine Trägersubstanz zur Aromabildung und gegebenenfalls ein Enzym oder Enzymbildner zur Fetthydrolyse zugegeben wurde, wobei die Unterbrechung der Fermentation nach abgeschlossener Aromabildung und -anlagerung durch Aufheizen des Gemisches auf vorzugsweise 60 bis 80°C und anschließender ein- und mehrstufiger Trennung der Fettphase von der Fermentationsbrühe erfolgt und nach Zugabe erforderlicher Nährkomponenten erneut mit Mikroorganismenspecies, Trägersubstanz unter vollständiger oder teilweiser Nutzung der Restnährstoffe der Biomasse fermentiert wird.

Titel der Erfindung

Verfahren zur enzymatisch-mikrobiellen Gewinnung von Aromastoffen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von Aromastoffen auf enzymatisch-mikrobiellem Weg unter Verwendung von Fermentationsmedien und Aromaträgersubstanzen zur Herbeiführung spezifischer, vorzugsweise käseartiger Geruchs- und Geschmacksnoten in Lebensmitteln. Die Erfindung ist anwendbar in Betrieben oder Einrichtungen, die Aromastoffe herstellen bzw. die die Aromastoffe zu Finalprodukten weiter Verarbeiten.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es sind bereits Verfahren bekannt, bei denen auf enzymatisch-mikrobiellem Weg vorrangig aus natürlichen Medien, wie z. B. Milch, Molke, Rahm, Käsebruch u.a. durch die Fermentation von *Penicillium roqueforti* im Temperaturbereich von 25 ... 30° C ein Roquefortaroma gewonnen wird, das an eine Fettphase, wie z. B. Butterfett, Butteröl, hydrolysiertes Fett, Kokosfett u.a. angelagert wird, mit dem Ziel, dieses Aroma Lebensmitteln zuzusetzen.

Dabei erfolgt bekannterweise der Zusatz der Aromakomponente zum Lebensmittel mittels der gesamten Fermentationsbrühe mit Fettphase oder nur mittels der abgetrennten Fettphase.

Die Fermentationsdauer beträgt bei diesen bekannten Verfahren 2...14 Tage und erfolgt unter Atmosphären- bzw. Überdruck.

Diesen bekannten Verfahren haftet ein wesentlicher Nachteil an, der darin besteht, daß die verwendeten Nährmedien natürliche Medien sind, die bei der Fermentation zu großen Variationsbreiten führen und damit die Qualität des Aromas in unververtretbar breiten Grenzen schwankt.

Ein weiterer wesentlicher Nachteil bei den bekannten Verfahren besteht in den hohen Kosten, insbesondere Energie- und Materialkosten, die sich u.a. aus der ungünstigen Verfahrensführung bzw. der Diskontinuität des Prozeßverlaufes, vornehmlich durch die unvertretbar langen Fermentationszeiten, ergeben.

Ein weiterer wesentlicher Nachteil bei den bekannten Verfahren ist in der ungenügenden Ausbeute der während des Fermentationsprozesses gebildeten Aromastoffe, die teilweise als Reste in der Fermentationsbrühe bzw. über die Abluft verloren gehen, zu sehen. Damit verschlechtert sich die Wirtschaftlichkeit der Verfahren weiter.

Ein weiterer Nachteil ergibt sich aus der Unzulänglichkeit der bekannten Verfahren bezüglich der Trennbarkeit der die Aromastoffe beinhalteten Komponenten von der Fermentationsbrühe, wodurch es zusätzlich zu Ausbeuteverlusten kommt. Das heißt, daß als Folge der unzureichenden Trennung zwischen der Fermentationsbrühe und der Fettphase die Möglichkeit für das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen sowie autolytische Prozesse besteht.

Ein weiterer Nachteil der bekannten Verfahren ist in der Temperaturführung in bezug auf die Haltbarkeit der angelagerten Aromastoffe und damit außerdem für eine spätere Wiederauskeimfähigkeit der Konidien des *Penicillium roqueforti* im Lebensmittel zu sehen.

Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, daß das Aroma ausschließlich auf der Basis der Anwendung von *Penicillium roqueforti* erzeugt wird, wodurch spezifischen Qualitätsrichtungen für entsprechende Lebensmittel nicht Rechnung getragen werden kann.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist, die den bekannten Verfahren anhaftenden Mängel wie z.B. diskontinuierlicher Verfahrensablauf, hohe Material- und Energiekosten, schlechte Trenneigenschaften der mit Aromastoffen angereicherten Trägersubstanz sowie die dadurch verschärften Umweltprobleme, geringe Haltbarkeit, unzureichende Ausbeute, Schwierigkeiten bei der Applikation und andere zu beseitigen.

Es soll ein Aromastoff vorzugsweise auf quasikontinuierlichem Weg hergestellt werden, der insbesondere die Material- und Energiekosten minimiert, die Trenneigenschaften wesentlich verbessert sowie die anderen genannten Nachteile bei der Herstellung und Applikation nicht mehr aufweist und es ermöglicht, differenzierte Geschmackseigenschaften des Aromas und somit im Lebensmittel zu realisieren.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur ökonomischen und umweltfreundlichen Herstellung von Käsearoma auf enzymatisch-mikrobiellem Weg zu schaffen und die Verfahrensbedingungen zur Erhöhung der Effektivität darzulegen. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß in einer Fermentationsanlage eine Fermentationsbrühe halbsynthetischer definierter Zusammensetzung als Startmedium durch einen oder mehrere Mikroorganismenspecies, vorzugsweise *Penicillium roqueforti*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium camemberti* und *Penicillium candidum* beimpft und bis zum Abschluß der Aromabildung im physiologisch bedingten Fermentationstemperaturbereich, vorzugsweise bei 25...30° C, fermentiert wird, der zuvor zusätzlich eine Trägersubstanz zur Aromabildung, für die außer Fetten und Ölen auch andere bei den Arbeitstemperaturen flüssige Medien, wie freie Fettsäuren, Glycerin u.a. in Frage kommen, vorzugsweise Butterfett, zugegeben und sterilisiert wurde, wobei zur Fetthydrolyse eine Lipase oder ein lipasebildender

Mikroorganismus in oder außerhalb der Fermentationsanlage verwendet wird. Nach abgeschlossener Aromabildung und -anlagerung in der ersten Prozeßeinheit erfolgt die Unterbrechung der Fermentation und Gewinnung der Aromastoffe durch Aufheizen des Gemisches auf vorzugsweise 60 bis 80° C und anschließender ein- oder mehrstufiger Trennung der Fettphase von der Fermentationsbrühe als weitere Prozeßeinheit, aus der die Restaromastoffe durch eine Extraktion bei vorzugsweise 60 bis 80° C mit Träger-substanz gewonnen und getrennt werden können. Die verbleibende Fermentationsbrühe wird vollständig oder teilweise in einen weiteren Fermentor geleitet, sterilisiert und nach Zugabe erforderlicher Nährkomponenten erneut mit den oben genannten Mikroorganismenspecies, der gleichen Träger-substanz und dem gleichen Enzym unter Nutzung der Restnährstoffe der Biomasse fermentiert, wobei durch die geeignete Kopplung der Prozeßeinheiten eine quasikontinuierliche Verfahrensführung möglich wird. Die Unterbrechung des Fermentationsprozesses und die Trennung der Aromastoffe erfolgt wie bereits in der 1. Fermentationsstufe für die 2. und jede weitere Fermentationsstufe wie beschrieben. Die Abtrennung erfolgt dabei zweckmäßig durch Sedimentation, Zentrifugation, Kristallisation, Agglomerisation sowie Kombination dieser genannten Maßnahme. Die Anlagerung der Aromastoffe an die Trägersubstanz kann erfindungsgemäß teilweise oder vollständig innerhalb des Fermentationsgefäßes oder in einem zweiten Gefäß erfolgen, wodurch eine verringerte Umweltbelastung durch Abprodukte erreicht wird. Die enthaltenen Aromastoffe lassen sich vorzugsweise in Milch und Milchprodukten, jedoch auch in Fleisch- und Wurstwaren und anderen Produkten einsetzen.

Die Erfindung hat verschiedene Vorteile, u.a. daß ein Verfahren zur Gewinnung der betreffenden Aromastoffe vorliegt,

welches sich durch hohe Wirtschaftlichkeit, insbesondere geringe Material- und Energiekosten, wesentlich verbesserte Qualität des Aromastoffes bei gleichzeitig verbesserter Haltbarkeit und erweiterten Applikationsmöglichkeiten, weitgehender Wiederverwendung der Biomasse als Nährkomponenten für die Mikroorganismen und stark verringerter Umweltbelastung durch Abprodukte auszeichnet. Zum besseren Verständnis der Erfindung wird ein Ausführungsbeispiel angeführt.

Ausführungsbeispiel

In ein Fermentationsgefäß werden als Startmedium 0,75 kg Kaseinpepton, 4,5 kg Natriumchlorid, 1,0 kg Glukose und 15 kg Butter gegeben und auf 150 Liter mit Wasser aufgefüllt, bei 121° C sterilisiert, auf 30° C gekühlt und anschließend 48 Stunden nach Zugabe von 30 g Pankreatin und einer Suspension von *Penicillium roqueforti* fermentiert. Danach wird das Gemisch auf 60° C aufgeheizt und mittels einer Zentrifuge in aromahaltige Fettphase und Fermentationsbrühe getrennt. Die Fermentationsrestbrühe wird wieder in ein Fermentationsgefäß geleitet und erneut mit 30 g Pankreatin und einer Suspension von *Penicillium roqueforti* 48 Stunden bei 30° C fermentiert. Danach wird die aromahaltige Fettphase von der Fermentationsrestbrühe mit der gleichen Zentrifuge getrennt. Die so gewonnenen aromahaltigen Fettphasen werden gemischt und zur Herstellung von Doppelrahmfrischkäse mit pikanter Geschmacksnote u.a. Erzeugnisse verwendet.

Erfindungsansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Aromastoffen, dadurch gekennzeichnet, daß in einer Fermentationsanlage eine Fermentationsbrühe als Startmedium durch ein oder mehrere Mikroorganismenspecies beimpft und bis zum Abschluß der Aromabildung fermentiert wird, der zuvor zusätzlich eine Trägersubstanz zur Aromabildung und gegebenenfalls ein Enzym oder Enzymbildner zur Fetthydrolyse zugegeben wurde, wobei die Unterbrechung der Fermentation nach abgeschlossener Aromabildung und -anlagerung durch Aufheizen des Gemisches auf vorzugsweise 60 bis 80° C und anschließender ein- oder mehrstufiger Trennung der Fettphase von der Fermentationsbrühe erfolgt und nach Zugabe erforderlicher Nährkomponenten erneut mit Mikroorganismenspecies, Trägersubstanz unter vollständiger oder teilweiser Nutzung der Restnährstoffe der Biomasse fermentiert wird.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Prozeßeinheit der Fermentation und die der Trennung der Fettphase quasikontinuierlich gekoppelt werden.
3. Verfahren nach Punkt 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Trägersubstanz außer Fetten und Ölen auch andere bei den Arbeitstemperaturen flüssige Medien, wie freie Fettsäuren, Glycerin u.a. eingesetzt werden.
4. Verfahren nach Punkt 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Startfermentationsbrühe aus einem Pepton-, Kohlehydrat-, Salz-Gemisch besteht.
5. Verfahren nach Punkt 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Desinfektionsschutz eine ausreichende Salzmenge, vorzugsweise Natriumchlorid, zugegeben wird.

6. Verfahren nach Punkt 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß Pepton vollständig oder teilweise durch andere Stickstoffquellen ersetzt wird.
7. Verfahren nach Punkt 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Mikroorganismenspecies einzeln oder in Kombination *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Brevibacteriaceae*, *Leuconostoc* spp., *Streptococcus* spp. u.a. zur Anwendung kommen.
8. Verfahren nach Punkt 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß zur Fetthydrolyse ein lipolytisches Enzympräparat verwendet wird.
9. Verfahren nach Punkt 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Fetthydrolyse durch einen oder mehrere Mikroorganismen innerhalb oder außerhalb des Fermentationsgefäßes vorgenommen wird.
10. Verfahren nach Punkt 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Prozesseinheit Trennen des Gemisches sowohl im Fermentationstemperaturbereich als auch bei höheren Temperaturen erfolgt.
11. Verfahren nach Punkt 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Trennen durch Sedimentation, Zentrifugation, Kristallisation, Agglomeration sowie Kombination der genannten Maßnahmen erfolgt.
12. Verfahren nach Punkt 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß nach dem Abtrennen der Fettphase bei jeder Fermentationsstufe eine Extraktion der in der Fermentationsbrühe verbleibenden Aromastoffe erfolgt.
13. Verfahren nach Punkt 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Anlagerung der gebildeten Aromastoffe an die Trägersubstanz teilweise oder vollständig außerhalb des Fermentationsgefäßes erfolgt.