NORGE

(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) NO (11) **178453** (13) B

(51) Int Cl[6] A 23 J 3/04, 3/14, 3/30, C 07 K 1/12

Styret for det industrielle rettsvern

(21) Søknadsnr	894067	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	11.10.89	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	11.10.89	(30) Prioritet	14.10.88, US, 258191
(41) Alm. tilgj.	17.04.90		
(44) Utlegningsdato	27.12.95		

(71) Patentsøker Société des Produits Nestlé SA, Case postale 353, CH-1800 Vevey, CH

(72) Oppfinner Paul-Emile Cornet, Greenwich, CT, US
Rebecca Sui-Chun So, New Milford, CT, US
John Stewart Tandy, Litchfield, CT, US
Roland Faesi, Bruetten, CH
Milo A. Nielsen, Granada Hills, CA, US

(74) Fullmektig Bryns Patentkontor AS, Oslo

(54) Benevnelse **Fremgangsmåte for fremstilling av hydrolyserte proteiner**

(56) Anførte publikasjoner NO A 893794, GB 846682, US 2838574

(57) Sammendrag

En fremgangsmåte for fremstilling av et hydrolysert protein som omfatter hydrolysering av et plante- eller animalsk protein med saltsyre for å gi en oppslemming og deretter, før eller etter vekkfiltrering av resterende uhydrolysert materiale, behandling med alkali til en pH fra 8 til 14, og å beholde i en tidsperiode for å redusere mengden av uønskede klorerte forbindelser og justere på nytt til en pH fra 4 til 7, for å gi et flytende hydrolysert proteinfiltrat.

Hydrolyserte proteiner har vært kjent i matsystemer fra Fjerne Østen i flere århundrer i form av soyasaus. Den er tradisjonelt blitt fremstilt ved enzymatisk hydrolyse og krever lang tid for fremstilling, vanligvis flere måneder.

For omtrent 100 år siden ble det utviklet en raskere fremgangsmåte med hydrolysering av proteiner for fremstilling av aroma ved å anvende saltsyre der tiden som var nødvendig bare var noen få timer. I denne sure hydrolyseprosessen var vegetabilske plante- eller dyreproteiner som stammet fra korn, soya, hvete, ris, gjær, peanøtt eller kasein ofte anvendt som utgangsproteinkilder og ble vanligvis oppnådd som et resultat av separering av proteinfraksjonen under oppmaling av korn eller etterfulgt oppløsningsmiddelekstrahering av oljer. Proteininnholdet i disse råmaterialene kan variere fra 40 % til 90 % med et generelt gjennomsnitt på ca. 60 %. Normalt blir proteinkilden hydrolysert med saltsyre som har en konsentrasjon på ca. 20 vekt-% ved en temperatur fra 120-135°C i løpet av en periode fra 5 til 8 timer og forhøyet trykk opp til 308,21 KPa. Etterfulgt av hydrolyse blir oppslemmingen nøytralisert med et hensiktsmessig alkalisk materiale slik som natriumhydroksyd eller natriumkarbonat til en pH fra 5,0 til 5,3 og det resterende uhydrolyserte materialet (lignin, humin) filtrert vekk. Oppslemmingen kan bli avfarget før filtrering, eller etter filtrering ved konvensjonelle metoder, f.eks. aktivert karbon, absorbsjonsharpikser. Etter filtrering av det uhydrolyserte materialet kan den fortynnede væsken bli konsentrert for å utfelle deler av saltet som blir dannet og deretter gjenfiltrert. Etterpå kan væsken som inneholder ca. 42 % faststoff, bli videre konsentrert til pastaer eller tørket ved en hvilken som helst konvensjonell metode, slik som spraytørking eller vakuumtrommetørking, til pulverformige produkter. Således kan syrehydrolyserte proteiner være i væske-, pasta- eller pulverform og bestå i hovedsak av aminosyrer og salter som er resultat av den syrekatalyserte nedbryting av peptidbindinger som er tilstede i spiselige

proteinaktige materialer. Aromaen til produktet vil selvsagt variere avhengig av typen proteinkilde som blir anvendt som råmateriale.

Anvendelsen av saltsyre i hydrolyse av proteiner fører derimot til dannelse i sidereaksjoner av visse uønskede klorinerte biprodukter slik som α-klorohydriner. Det er forskjellige mulige fremgangsmåter som kan vurderes for å redusere mengden av disse forbindelser. F.eks. vil det være mulig å anvende et utgangsmateriale som ikke inneholder noe fett, siden glyserol er en av forløperne som muliggjør at klorohydriner blir dannet med saltsyre. På den annen side er derimot slike utgangsmaterialer mer eller mindre kommersielt uoppnåelige og på den annen side vil de modifisere de organoleptiske kvalitetene i aromaen. En annen mulighet er at hydrolyse kan bli utført med en klorfri mineralsyre, slik som svovelsyre eller fosforsyre. Slik modifisering av den tradisjonelle fremgangsmåten vil derimot også ha omvendt effekt på de organoleptiske kvalitetene til den oppnådde aromaen.

Det er utviklet en fremgangsmåte for fremstilling av hydrolyserte proteiner ved å anvende saltsyre der mengden av uønskede klorinerte forbindelser er vesentlig redusert uten å ha særlig omvendt effekt på de organoleptiske kjennetegnene til det hydrolyserte proteinproduktet og der en aroma kan bli oppnådd som er vesentlig lik den til et hydrolysert protein fremstilt under normale betingelser.

Således tilveiebringer foreliggende oppfinnelse en fremgangsmåte for fremstilling av et hydrolysert protein som omfatter hydrolysering av et plante- eller animalsk protein med saltsyre, og er kjennetegnet ved at man deretter danner en oppslemming, og før eller etter bortfiltrering av det resterende uhydrolyserte materiale, behandler med alkali ved en pH fra 10 til 12 som beholdes i en tidsperiode for å redusere mengden av uønskede klorinerte forbindelser og

justerer på nytt til en pH fra 4 til 7, for å gi et flytende hydrolysert proteinfiltrat, ved en temperatur fra 35°C til 140°C i en tidsperiode fra 4 timer til 1 minutt.

Plante- eller dyreproteinet kan komme fra forskjellige opprinnelser slik som korn, soya, hvete, ris, gjær, peanøtt eller kasein, og blir vanligvis oppnådd ved separering av proteinfraksjonen under oppmaling av korn eller etter oppløsningsekstrahering av oljer. F.eks. er det mulig å anvende oljefrøkaker, cerealgluten eller avfettet soyamel.

Saltsyren som blir anvendt for hydrolyse er fortrinnsvis konsentrert og kan ha en konsentrasjon fra 15 % til 25 %, fortrinnsvis fra 16 % til 22 % og særlig fra 17 % til 19 vekt-%. Mengden av proteinmaterialet kan variere, f.eks. fra 30 til 50 vekt-%, men mer vanlig fra 35 til 45 vekt-% og fortrinnsvis fra 38 til 42 vekt-% basert på totalvekt av hydrolyseblanding.

Temperaturen i hydrolysen kan være fra 70°C til 140°C, mer vanlig fra 100°C til 130°C, fortrinnsvis fra 105°C til 120°C og særlig fra 110°C til 115°C.

Varigheten av hydrolysen kan variere fra 2 til 12 timer og mer vanlig fra 2,5 til 8 timer, generelt er lengre tidsperioder nødvendig ved lavere temperaturer. Det er fordelaktig at varigheten av hydrolysen er fra 3 til 7 timer, særlig fra 3 til 5 timer.

Det er funnet at ved senking enten av syrekonsentrasjonen fra de normale 20 % til ca. 18 %, temperaturen fra det normale 120°C-135°C til 110°C-115°C eller varigheten fra det normale 5-8 timer til 3-4 timer, eller en kombinasjon av to eller flere av disse bearbeidingsparametrene, kan mengden av uønskede klorinerte forbindelser bli betydelig redusert.

Hydrolysen kan bli utført med omrøring og hvis ønskelig under hevet trykk, f.eks. opptil 790,9 KPa og mer vanlig fra 170,3 KPa til 446,1 KPa.

Etter hydrolyse, før eller etter bortfiltrering av resterende uhydrolysert materiale, blir det hydrolyserte proteinet først behandlet med en mat-aksepterbar sterk alkali slik som KOH eller NH_4OH, men fortrinnsvis NaOH og/eller Na_2CO_3 for å justere pH til fra 8 til 14 og beholdt ved en temperatur og i en tidsperiode for å redusere mengden av uønskede klorinerte forbindelser. pH blir fortrinnsvis justert fra 9 til 13 og særlig fra 10 til 12 ved den alkaliske behandlingen. Generelt krever den alkaliske behandlingen til høyere pH-verdier kortere bearbeidingstider enn behandlinger til lavere pH-verdier fordi dess høyere konsentrasjonsforholdet av (OH^-) til α-klorohydrin, dess raskere vil reaksjonen og større vil reduksjonen i mengden av α-klorohydrin være. Temperaturen kan f.eks. strekke seg fra omgivelsestemperatur til 170°C eller enda høyere hvis ekstremt kort bearbeidingstid blir anvendt. Tidsperioden kan strekke seg fra noen få sekunder ved høy pH og temperaturer over omgivelsestemperatur, til 24 timer eller til og med flere uker eller mer ved omgivelsestemperaturer. Den virkelige bearbeidingstiden og temperaturen ved en hvilken som helst pH blir styrt av restmengden av uønskede klorinerte produkter og samlet ønsket organoleptisk aksept-ering av det hydrolyserte proteinet. En høy temperatur-korttidsbehandling, slik som fra 100° til 140°C i løpet av en periode fra 1 til 5 minutter, kan f.eks. være fordelaktig. pH til det alkaliske hydrolyserte proteinet blir deretter justert på nytt til en pH fra 4 til 7, fortrinnsvis fra 5 til 5,5, med syre, vanligvis saltsyre, ved en temperatur som vanligvis er fra 10 til 50°C og fortrinnsvis fra 20 til 30°C selv om høyere og lavere temperaturer kan bli benyttet.

Det resterende uhydrolyserte materialet, som i hovedsak består av lignin og humin, blir filtrert vekk fra opp-slemmingen før eller etter pH-justeringen. Oppslemmingen kan

bli avfarget før filtrering, eller det flytende filtratet etter filtrering kan bli avfarget ved konvensjonelle anvendinger, f.eks. aktivert karbon, absorbsjonsharpikser. Det flytende hydrolyserte proteinfiltratet kan deretter bli konsentrert, f.eks. ved inndamping for å utfelle noe av saltet som blir dannet og deretter gjenfiltrere for å fjerne dette utfelte saltet for å gi et flytende hydrolysert proteinprodukt som kan inneholde fra 20 % til 50 %, og fortrinnsvis fra 35 % til 45 vekt-% faste stoffer. Det flytende hydrolyserte proteinproduktet kan deretter bli inndampet videre for å gi en pasta med ca. 85 vekt-% av faste stoffer og hvis ønskelig kan pastaen bli tørket og knust for å gi et pulver som vanligvis inneholder ca. 96-98 vekt-% av faste stoffer.

De følgende eksemplene illustrerer ytterligere foreliggende oppfinnelse:

Eksempel 1

100 kg glutenkorn som inneholder ca. 60 % protein blir hydrolysert med 180 kg 20 % saltsyre ved 120°C i 7 timer. Den resulterende oppslemmingen blir filtrert for å fjerne uhydrolysert materiale slik som lignin og humin, avfarget med aktivt karbon, og det flytende filtratet blir deretter behandlet med natriumhydroksydoppløsning til en pH på 11,5 og beholdt i tid og temperaturer som angitt i følgende tabell I som gir α-klorohydrininnhold som en prosentverdi. pH blir deretter justert på nytt til 5,2 med saltsyre ved 25°C og det flytende hydrolyserte proteinfiltratet blir deretter konsentrert ved inndamping for å utfelle noe av det dannede saltet og filtrert på nytt for å gi et flytende hydrolysert proteinprodukt som har et faststoffinnhold på 42 vekt-%. Produktet hadde en mer avrundet, mindre sur karakter når det ble sammenlignet med et produkt fremstilt ved den normale fremgangsmåten.

Tabell I

Tid (timer)	35°C	45°C	55°C
0,00	100,00	100,00	100,00
0,25	58,01	33,78	34,69
0,50	0,41	ND	0,04
0,75	0,30	0,10	ND
1,00	0,19	0,07	ND
2,00	0,04	0,07	ND
3,00	0,03	ND	ND
4,00	0,02	ND	ND

Man kan se at økende holdetemperaturer og tider fører til en større reduksjon i mengden α-klorohydrin, og at høyere temperaturer, kortere tid, kan bli anvendt for å oppnå en spesifikk reduksjon i mengden av α-klorohydrin (ND = ikke detektert).

Eksempel 2

Fremgangsmåten i eksempel 1 ble gjentatt med unntakelse av at det flytende filtratet behandlet med natriumhydroksyd ble holdt ved 24°C i 14 timer ved pH-verdiene som er angitt i tabell II, som indikerer prosentverdien av α-klorohydrin-innholdet sammenlignet med en kontroll ved en pH på 5,47.

Tabell II

pH	α-klorohydrin %
5,47	100.00
8,24	88,76
9,01	78,77
9,23	68,25
9,47	50,22
9,96	13,05
10,25	4,79
10,43	ND
10,95	ND

Eksempel 3

Fremgangsmåten i eksempel 1 ble gjentatt med unntakelse av at hydrolysen ble gjennomført med 18 % saltsyre ved 110°C i 3,5 timer, og det flytende filtratet behandlet med natrium-hydroksydoppløsning til en pH på 11,5 og ble holdt ved 35°C i 15 minutter. Aromaen i produktet ble funnet å være meget likt normalt fremstilte hydrolyserte planteproteiner. α-kloro-hydrininnholdet var så lavt at det ikke var detekterbart.

Eksempel 4

Fremgangsmåten i eksempel 1 ble gjentatt med unntakelse av at hydrolysen ble utført med 18 % saltsyre ved 120°C i 7 timer, og det flytende filtratet behandlet med natriumhydroksyd-oppløsning til en pH på 10,5 og holdt ved 120°C i 3,5 minutter. α-klorohydrininnholdet i produktet var mindre enn 0,50 ppm.

Patentkrav

1.
Fremgangsmåte for fremstilling av et hydrolysert protein som omfatter hydrolysering av et plante- eller animalsk protein med saltsyre, karakterisert ved at man deretter danner en oppslemming, og før eller etter bortfiltrering av det resterende uhydrolyserte materialet, behandler med alkali ved en pH fra 10 til 12 som beholdes i en tidsperiode for å redusere mengden av uønskede klorinerte forbindelser og justerer på nytt til en pH fra 4 til 7, for å gi et flytende hydrolysert proteinfiltrat, ved en temperatur fra 35°C til 140°C i en tidsperiode fra 4 timer til 1 minutt.

2.
Fremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved at pH blir justert med NaOH.

3.
Fremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved at oppslemmingen blir holdt ved den justerte pH ved en temperatur fra 35° til 55°C i en periode fra 30 minutter til 4 timer.

4.
Fremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved at oppslemmingen blir holdt ved den justerte pH ved en temperatur fra 100° til 140°C i løpet av en periode fra 1 til 5 minutter.

5.
Fremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved at pH blir justert på nytt til en verdi fra 5 til 5,5.

6.

Fremgangsmåte ifølge krav 5, k a r a k t e r i s e r t v e d at temperaturen er fra 10° til 50°C.