DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT

(12) **Wirtschaftspatent**

(19) **DD** (11) **239 519 A1**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

4(51) **A 23 J 1/14**
A 23 J 1/20

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP A 23 J / 278 789 3 (22) 19.07.85 (44) 01.10.86

(71) Humboldt-Universität zu Berlin, Direktorat für Forschung, 1086 Berlin, Unter den Linden 6, DD
(72) Sienkiewicz, Tadeusz, Dr. rer. nat. Dipl.-Biochem., PL; Dev, Dipak K., Dr. rer. nat., IN; Hansen, Rudolf, Prof. Dr. sc. agr., DD; Quensel, Erika, Dr. sc. agr., DD

(54) Verfahren zur Herstellung eines Proteinerzeugnisses

(57) Die Erfindung beschreibt ein Verfahren zur Herstellung eines Proteinerzeugnisses aus Leinsamenproteinen mit einem Pentosananteil und Milchproteinen mit unterschiedlichem Eiweiß- und Salzgehalt und einem *p*H-Wert von etwa 6 bis etwa 7. Der Gewinnung alkalischer Leinsamenproteinextrakte folgt eine Zugabe von Lab- und/oder Sauermolke, Lab- und Sauermolkenpulver bzw. anderen Milchprodukten. Nach der Herstellung einer Copräzipitatvorstufe auf diesem Wege oder durch Extraktion von entfettetem Leinsamenmehl oder Leinsamenproteinextrakt mit flüssigen Molken- bzw. Milcherzeugnissen wird dieselbe Copräzipitatvorstufe unter Zusatz von Calziumchlorid erhitzt und durch Zusatz von Säuren gesäuert. Die abgetrennten Copräzipitate (über einen Dekanter oder einen Separator) unterschiedlicher Zusammensetzung werden neutralisiert und gegebenenfalls durch Zusatz von Natron- und Kalilauge löslich gemacht.

ISSN 0433-6461

7 Seiten

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eines Proteinerzeugnisses aus pflanzlichen Rohstoffen und Milcheiweiß als Copräzipitat durch Extraktion und Fällung, **dadurch gekennzeichnet,** daß kaltgepreßtes, mit Hexan oder anderen Lösungsmitteln entfettetes Leinsaatmehl, das im Samen einen hohen Pentosangehalt hat, einen Eiweißgehalt von etwa 40 bis etwa 60 % Protein aufweist und in wäßriger Dispersion einen *p*H-Wert von etwa 6,0 bis etwa 7,0 hat, nach Gewinnung alkalischer Proteinextrakte durch Mischung mit Lab- und/oder Sauermolke, Lab- und/oder Sauermolkenpulver bzw. anderen Milchprodukten oder daß entfettetes Leinsaatmehl unter Zusatz von Labmolke und/oder Kondenslabmolke oder daß Leinsaatproteinextrakte nach Mischung mit Kondenslabmolke bzw. flüssigen oder pulverförmigen Molkenproteinkonzentraten nach einer Erhitzung und einer Säuerung unter Calciumchlorid-Zusatz und Separierung, Waschen und Neutralisieren in Wasser gut dispergierbarer pulverförmige Molkenprotein-Leinsaatprotein-Copräzipitate mit einem hohen Pentosananteil gewonnen werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Copräzipitate aus Mischungen von entfettetem Leinsaatmehl (Ölgehalt unter 1 %) und einem daraus hergestellten alkalischen Proteinextrakt mit Lab- und/oder Sauermolke (Quarkmolke, technische Sauermolke) hergestellt werden, wobei das Feststoff/Flüssigkeits-Verhältnis 1:20 bis 40 beträgt und daß bei Verwendung von Kondensmolke diese 2- bis 10fach konzentriert ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet,** daß anstelle von Molken auch andere Milchprodukte wie entrahmte Milch und/oder süße oder gesäuerte Buttermilch oder deren Mischungen mit verschiedenen Molkenarten verwendet werden.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Mischung als Copräzipitat-Vorstufe einen *p*H-Wert von etwa 6,0 bis etwa 7,5 aufweist und bei etwa 20 bis etwa 50 °C, einer Ionenstärke von etwa u = 0,1 bis 1,0 M für 10 bis 60 min gerührt wird, wonach für etwa 5 min auf 85 bis 95 °C erhitzt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Fällung des hitzedenaturierten Leinsaat/Molkenprotein-Copräzipitates nach dem Zusatz von etwa 0,1 % Calciumchlorid und eine *p*H-Absenkung auf etwa 4,2 bis 4,5 mittels bekannter Lebensmittelsäuren, Salzsäure und/oder angesäuerter Sauermolke erreicht wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß die gefällten Copräzipitate über einen Dekanter oder einen Separator abgetrennt, mit Wasser gewaschen und in eine halblösliche Form überführt werden, indem sie mit Natron- oder Kalilauge so gelöst werden, daß der *p*H-Wert des sprüh- oder gefriergetrockneten Endproduktes 6,0 bis 7,0 beträgt.
7. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß bei Verwendung von Molkenpulvern diese so rekonstituiert werden, daß Trockenmassen von 35 bis 55 % vor der Mischung mit Leinsaatproteinextrakten bzw. Leinsaatmehl erreicht werden.
8. Verfahren nach Anspruch 1 und 7, **dadurch gekennzeichnet,** daß Leinsaatproteinextrakte mit einem *p*H-Wert von 8 bis 10,5 vor der Hitze/Säure-Fällung mit nicht denaturierten Molkenproteinkonzentraten im Verhältnis 1:1 bis 1:15 vermischt werden, wonach in bekannter Weise verfahren wird.
9. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß Mischprodukte aus Leinsaatproteinextrakten oder -isolaten und Molkenproteinkonzentraten, die über Ultrafiltration oder ähnliche Verfahren gewonnen wurden, durch gemeinsame Sprühtrocknung oder Trockenmischung hergestellt werden, wobei das Verhältnis von Leinsaat- zu Molkenprotein 10:90 bis 90:10 betragen kann, wobei die Copräzipitierung erst durch eine Erhitzung beim Anwender der Proteinmischung zu verbesserter Funktionalität führt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Proteinerzeugnisses aus Milcheiweiß und pflanzlichem Protein als Zusatzstoff für Lebensmittel, z. B. proteinreiche Getränke, Kindernahrungsmittel, Fleisch- und Fischprodukte, Backwaren und Eiskrem sowie als Aufschlagmittel für Süßwaren.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Ölsamenproteinisolate werden gewöhnlich so hergestellt, daß die enthaltenen Eiweiße mit Wasser, Alkalien, Natriumchlorid oder Polyphosphaten extrahiert werden, indem nach dieser Behandlung eine Fällung am isoelektrischen Punkt der Proteine vorgenommen wird, der eine Wärmbehandlung vorgeschaltet sein kann. Die *p*H-Senkung erfolgt meist mit Salz- oder Citronensäure. Andererseits sind auch Verfahren bekannt, in deren Verlauf Copräzipitate aus Milchproteinen (DD-WP- 119952) sowie aus Gemischen von Milch und Molke (DD-WP- 97815) gewonnen werden. Weitere aus der Literatur bekannte Möglichkeiten sind Mischungen aus Hefeprotein und Casein (Luther, H. und E. Schuster, Nahrung **26** [1982] 305), Mischungen von Sauermolke und Gerbereiabwässern (Townend, R. E., Biotechnology and Bioengineering **20** [1978] 589), Mischungen von entfettetem Rapssamen- und Baumwollsamenprotein mit Lab- oder Sauermolke (Thompson, L. U., Canadian Institute of Food Science and Technology J. **10** [1977] 43 und Thompson, L. U. et alii, Canadian Inst. Food Sci. Technol. J. **12** [1979] 108). Diese Copräzipitate haben eine höhere biologische Wertigkeit als die einzelnen Pflanzenproteine, häufig eine hellere Farbe sowie bessere Emulgierungs-, Wasser- und Fettabsorptionskapazitäten. Häufig ist jedoch die Schaumbildung solcher Proteincopräzipitate verschlechtert. Zur Gewinnung dieser Präparate wird die Fällung der komplexierten Proteine durch eine Ansäuerung bis zum isoelektrischen Bereich und eine vorgeschaltete Hitzebehandlung erreicht.

Aus der DE-Patentschrift 1179795 ist es bereits bekannt, aus entölten Leinsamen raffiniertes Protein auf extraktivem Wege unter Anwendung von Kationenaustauschern zu gewinnen. Wenn auch die Proteine in reiner Form gewonnen werden, so ist es erforderlich, geeignete Kationenaustauscher, z. B. solche aus der Patentschrift mit Phosphorsäureradikalen als funktionelle Gruppen einzusetzen. Die Aktivierung der Ionenaustauscher für Wiederverwendung erzeugt beträchtliche Mengen an Abwasser. Die Ionenaustauscher müssen vor dem Vermischen mit dem Samen geschützt werden, die Extraktion erfordert eine spezielle Vorrichtung.
Auch die hitzeinduzierten Copräzipitate von Erbsenprotein- und Sojaproteinisolaten mit Molke, Labmolkenpulvern und elektrodialysierten Molkenpulvern sind bereits beschrieben und untersucht worden (B. R. Harte, Diss. Abstracts Int. B **40** [1979/1980] 3, 1106; P. R. Patel, Dissertation Abstracts Int B **42** [1982] 7, 2763; H. B. Daabagh-El-Marghani, Diss. Abstr. Int. B **43** [1982] 5, 1417).
Auch hierbei wurden die Protein-Protein-Wechselwirkungen zwischen den pflanzlichen Globulinen und Albuminen einerseits und den Molkenproteinen andererseits ausgenutzt und chromatographisch nachgewiesen.
Zur Verbesserung der Extraktion von Sojamehl kann auch Pepsin eingesetzt werden, das jedoch später wieder inaktiviert werden muß. Auch die Co-Extraktion von Weizen-, Reis- und Sojaproteinkonzentraten mit Labmolke ist in jüngster Zeit untersucht worden, um ernährungsphysiologisch aufgewertete Pflanzenproteinkonzentrate zu erhalten (G. W. Lindsay et alii, J. Food Science **42** [1977] 1365; D. J. Nichols und M. Cheryan, J. Food Science **47** [1982] 486).
Neue Wege zur Konzentrierung der wäßrigen Proteinlösungen eröffnet auch eine Co-Ultrafiltration.
Nach der Patentschrift DD 217979 A 1 ist auch ein Verfahren zur Gewinnung von Proteinen aus pflanzlichen Rohstoffen und Milch sowie deren Verarbeitungsprodukten als Copräzipitat in Form von Isolaten oder Konzentraten bekannt. Die Extraktion wird nach mechanolytischer Feinstzerkleinerung mit Calciumhydroxyd oder Calciumsalzen ausgeführt und der Extrakt in Gegenwart von Milch, Molke, Magermilch oder rekonstituiertem Milchprodukt mit Milchsäurebakterien fermentiert. Nach der Fermentation werden die Proteine mittels thermischer Nachbehandlung im sauren Milieu präzipitiert. Aus Ausführungsbeispielen wird die Gewinnung von Copräzipitaten aus Rapssamen bzw. Rapssamenmehl mit Magermilch bzw. aus Sonnenblumenpreßschiefer bzw. Sonnenblumensamen mit Molke bzw. Magermilch bekannt. In jedem Fall erweist sich eine längere Milchsäurefermentation als notwendig, wobei die Fermentationszeiten 3, 6, 10 bzw. 12 h dem Produkt entsprechend betragen.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein Proteinerzeugnis aus pflanzlichen und tierischen Eiweißen herzustellen, das ein verbessertes Wasser- und Fettbindungsvermögen und verbesserte Emulgiereigenschaften als die pflanzlichen Proteine aufweist und gut schaumfähig ist.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Copräzipitierung von pflanzlichen Proteinen und Milchproteinen anzugeben. Das Proteinerzeugnis soll eine höhere biologische Wertigkeit als die pflanzlichen Proteine ausweisen und gegenüber den pflanzlichen Proteinen verbesserte, ausgeglichene funktionelle Eigenschaften besitzen.
Erfindungsgemäß wird kaltgepreßtes und entfettetes Leinsaatmehl mit einem Gesamtpentosangehalt von 10% bis 11% und nach einer Mahlung Korngrößen zwischen 100 und 250 um aufweist, bei einem Proteingehalt von 45% durch Alkalizusatz bei *p*H 9,5 bis 10,0 extrahiert wird und dieser Leinsaatproteinextrakt mit Lab- und/oder Sauermolke bzw. deren Konzentraten und Pulvern oder Magermilch und/oder süßer Buttermilch zu einer Copräzipitat-Vorstufe vermischt wird, die einen *p*H-Wert von 6,0 bis 7,5 aufweist.
Hiernach wird diese Vorstufe für maximal 5 min auf 85 bis 95 °C erhitzt und 0,1% $CaCl_2$-Lösung zugegeben und eine *p*H-Absenkung in den isoelektrischen Bereich vorgenommen, indem eine Lebensmittel- oder Mineralsäure und/oder angesäuerte Sauermolke zugesetzt werden. Das erhaltene Copräzipitat wird über Zentrifugation abgetrennt und durch Zusatz von Natron- oder Kalilauge zum Feuchtprodukt neutralisiert. Der *p*H-Wert des getrockneten Produkts liegt zwischen 6,0 und 7,0.

Tabelle 1: Aminosäuregehalt von Molkenprotein, Casein, Leinsaatprotein und FAO-Referenzprotein (g/100 g Protein)

Aminosäure	Molken-protein	Casein	Leinsaat protein	FAO-Referenz-protein
Essentielle Aminosäuren				
Arginin	3,1	3,60	10,6	2,4
Histidin	1,8	2,69	2,1...2,3	.
Isoleucin	6,7	5,52	4,3...4,4	4,2
Leucin	12,0	8,37	6,0...6,1	4,8
Lysin	9,7	7,30	3,7...4,0	4,2
Methionin	1,8	2,50	1,6	2,2
Phenylalanin	4,0	4,71	5,8...6,0	2,8
Threonin	5,2	4,40	3,5...3,8	2,6
Tryptophan	1,7	1,55	2,8...3,5	1,0
Valin	5,3	6,45	4,9...5,2	4,2

Nichtessentielle Aminosäuren				
Alanin	7,0	2,79	3,9...4,2	.
Asparaginsäure	11,1	6,49	10,0...10,6	.
Cystin	.	.	1,9	1,0
Cystein	2,7	0,65	.	.
Glycin	2,5	2,26	5,2...5,3	.
Glutaminsäure	17,7	20,26	22,0...22,4	.
Prolin	4,6	10,28	3,2...3,8	.
Serin	4,8	5,72	4,7...5,2	.
Tyrosin	3,2	5,57	2,6	3,0
NH_3	.	.	2,6...3,0	.

In einem anderen Verfahrensweg wird entfettetes Leinsaatmehl unter mechanischem Rühren im Verhältnis 1:20 bis 40 (Feststoff/Flüssigkeitsverhältnis) mit Lab- oder Kondenslabmolke (zwei- bis fünffach konzentriert) bei 20 bis 50°C, einer Ionenstärke von u = 0,1...1,0 M für 10 bis 40 min gerührt. Der gewonnene Proteinextrakt wird durch Separierung gewonnen und ein Copräzipitat hergestellt, wie es beschrieben wurde. Die erzielbaren Ausbeuten an Protein sind in Tabelle 2 angegeben.
Es ist auch möglich, daß Leinsaatproteinextrakte mit Kondensmolke, flüssigen oder pulverförmigen Molkenproteinkonzentraten gemischt werden, auf 85 bis 95°C/5 min erhitzt und nach $CaCl_2$-Zusatz wiederum angesäuert werden, um die Copräzipitate auszufällen, die wie beschrieben aufgearbeitet werden.
Schließlich ist auch die Herstellung von Leinsaat-/Molkenproteinmischprodukten möglich, indem flüssige oder pulverförmige, durch Ultrafiltration oder andere physikalische Trennverfahren gewonnene Molkenproteinkonzentrate mit solchen flüssigen oder pulverförmigen Konzentraten aus Leinsaatprotein bzw. Leinsaatproteinisolat vermischt und in dieser Form angewendet oder nach Sprühtrocknung als haltbare Produkte verwendet werden, wobei die Copräzipitierung erst durch eine Erhitzung beim Anwender der Proteinmischung zu teilweise verbesserter Funktionalität führt.

Tabelle 2: Erzielbare Ausbeuten an Protein in Gramm bei Verwendung von Lab- und Kondenslabmolke nach dem Verfahren II

Verfahrens-variante	Leinsaat-mehl (kg)	Labmolke (l)	Ausbeute an Protein Leinsaat-protein	Molken-protein	Gesamt-protein-konz. (%)
Variante 1,	1	20	135	120	1,28
Labmolke	1	40	135	240	0,93
Variante 2,					
Kondensmolke	1	20	180	240	2,10
(2fach konz.)	1	40	180	480	1,65
Variante 3,					
Kondensmolke	1	20	225	360	2,92
(3fach konz.)	1	40	225	720	2,36
Variante 4,					
Kondensmolke	1	20	270	480	3,75
(4fach konz.)	1	40	270	960	3,06

Die möglichen erfindungsgemäßen Verfahren werden in den folgenden Beispielen erläutert.
Die erhaltenen Copräzipitate bzw. Mischproteinprodukte zeichnen sich durch ein sehr gutes Wasserbindungsvermögen und Fettemulgiereigenschaften aus. Durch einen verhältnismäßig hohen Anteil an löslichen Pentosanen in copräzipitierten oder Mischprodukten eignen sich die Präparate als Sterilisation in geeigneten Lebensmitteln z. B. Fischkonserven.
Die Copräzipitate können als Zusatzstoffe oder Teilaustauscher in proteinreichen Getränken, Kinder- und Diätnahrungsmitteln, Fleisch- und Eisprodukten sowie Backwaren und als Aufschlagmittel in Kakao- und Zuckerwaren dienen.

Beispiel 1:

Leinsaatmehl entfettet
Trockenmasse 90 bis 92 %, 45 % Protein

↓ Alkalizusatz, Feststoff/Flüssigkeitsverhältnis 1:20

Leinsaatproteinextrakt
pH 9,5 bis 10,0
66 %ige Proteinausbeute

↓ Lab- und/oder Sauermolke / Lab- und/oder Sauermolkenpulver ggf. Zusatz von Säuren

Copräzipitat-Vorstufe
pH 6,0 bis 7,5

↓ 0,1 % Calciumchlorid

Erhitzung auf 85 bis 95 °C/5 min

↓ Ansäuerung auf pH 4,2 bis 4,5

Leinsaat-Molkenprotein-Copräzipitat

↓

Zentrifugalabtrennung/Waschen

↓ NaOH/KOH

Neutralisiertes Leinsaat/Molkenprotein Copräzipitat

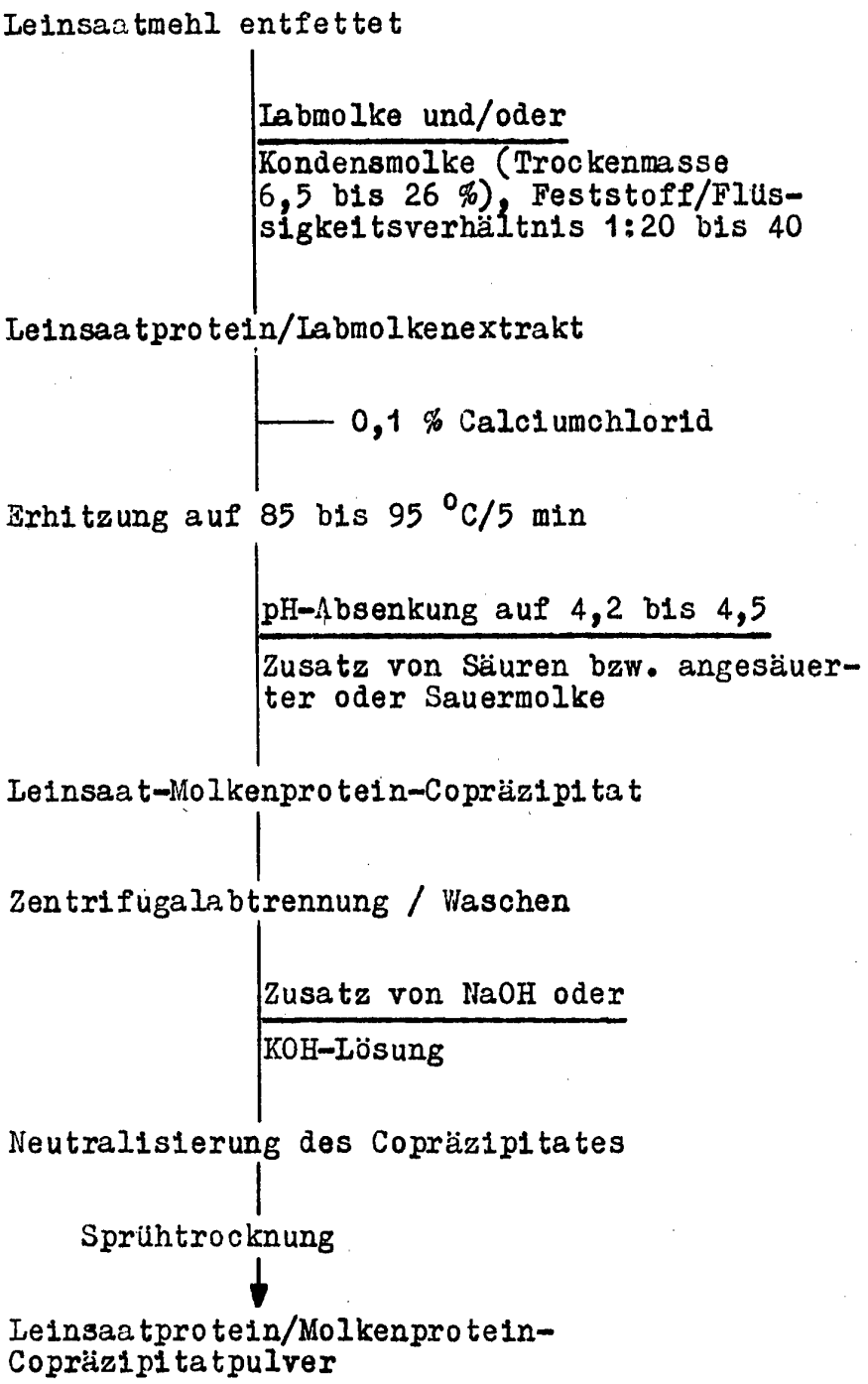
↓

Sprüh- oder Gefriertrocknung

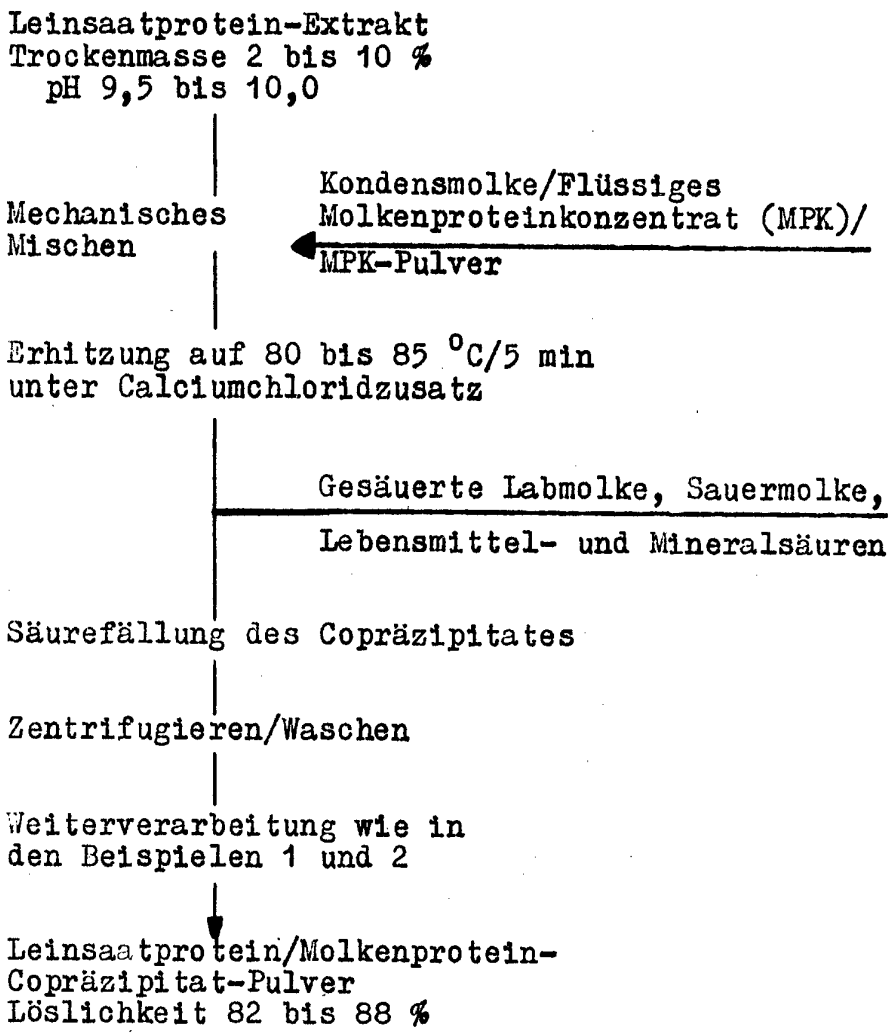
↓

Copräzipitatpulver
pH 6,0 bis 7,0

Beispiel 2:


Leinsaatmehl entfettet
Labmolke und/oder
Kondensmolke (Trockenmasse 6,5 bis 26 %), Feststoff/Flüssigkeitsverhältnis 1:20 bis 40
Leinsaatprotein/Labmolkenextrakt
0,1 % Calciumchlorid
Erhitzung auf 85 bis 95 °C/5 min
pH-Absenkung auf 4,2 bis 4,5
Zusatz von Säuren bzw. angesäuerter oder Sauermolke
Leinsaat-Molkenprotein-Copräzipitat
Zentrifugalabtrennung / Waschen
Zusatz von NaOH oder
KOH-Lösung
Neutralisierung des Copräzipitates
Sprühtrocknung
Leinsaatprotein/Molkenprotein-Copräzipitatpulver

Beispiel 3:


Leinsaatprotein-Extrakt
Trockenmasse 2 bis 10 %
pH 9,5 bis 10,0
Mechanisches Mischen
Kondensmolke/Flüssiges Molkenproteinkonzentrat (MPK)/ MPK-Pulver
Erhitzung auf 80 bis 85 °C/5 min unter Calciumchloridzusatz
Gesäuerte Labmolke, Sauermolke, Lebensmittel- und Mineralsäuren
Säurefällung des Copräzipitates
Zentrifugieren/Waschen
Weiterverarbeitung wie in den Beispielen 1 und 2
Leinsaatprotein/Molkenprotein-Copräzipitat-Pulver
Löslichkeit 82 bis 88 %