



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 28 331 T2** 2005.03.10

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 821 067 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 28 331.3**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/ES97/00006**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 900 606.1**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 97/029204**

(86) PCT-Anmeldetag: **13.01.1997**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **14.08.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **28.01.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **31.03.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **10.03.2005**

(51) Int Cl.<sup>7</sup>: **C02F 3/28**

**C12R 1/225, A23C 21/00, C12P 7/56**

(30) Unionspriorität:

**9600301 08.02.1996 ES**

(73) Patentinhaber:

**Fuertes Gonzalez, Juan, Madrid, ES; Moya Mora, Angela M., Ciudad Real, ES**

(74) Vertreter:

**Anwaltskanzlei Gulde Hengelhaupt Ziebig & Schneider, 10179 Berlin**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**gleich Anmelder**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR BEHANDLUNG VON RESTSERUM IN DER KÄSEHERSTELLUNG, UND ENTFERNUNG SEINES VERUNREINIGUNGSPOTENTIALS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

**[0001]** Dieses Patent betrifft ein Verfahren zur Behandlung der Molke, die als Nebenprodukt in käseherstellenden Betrieben anfällt, wobei dies ein Nebenprodukt ist, das aufgrund der verunreinigenden Eigenschaften seines Gehalts ein Problem darstellt, sofern dieser feste Substanzen, insbesondere Lactose, ein leicht vergärbare Zucker, sowie eine große Anzahl von Mikroorganismen umfaßt, die zu Fäulen unerwünschter Gärung führen könnten.

**[0002]** Diese Umstände führen zu einem ernststen Problem im Hinblick auf die Abwässer und die Entsorgung der in den käseherstellenden Betrieben anfallenden Molke, da die gegenwärtig geltenden Gesetze die Erhaltung der Umwelt unter den günstigsten Umständen für die natürliche Umgebung sichern sollen.

**[0003]** Abgesehen davon ergibt sich bei der Durchführung dieses Verfahrens – neben der sich bietenden Möglichkeit, die unerwünschten verunreinigenden Auswirkungen des obenerwähnten Nebenprodukts zu beseitigen – auch der beträchtliche Vorteil, daß am Ende ein so technisch wertvolles Produkt wie L-Milchsäure als resultierendes Nebenprodukt erhalten wird, wobei jedoch die Herstellung von L-Milchsäure nicht Teil der Erfindung ist.

**[0004]** Es ist seit langem bekannt, daß L-Milchsäure ein wichtiges Additiv in der lebensmittelkonservierenden Industrie ist, das mit Hilfe vieler bekannter Methoden erhalten wird, von denen einige speziell zu dessen Herstellung geschaffen wurden.

**[0005]** Beginnend im Jahre 1931 wurde ein Lactobacillus zur Herstellung von L-Milchsäure eingesetzt, d. h., Lactobacillus bulgaricus, um eine geeignete Fermentierung bei einem steuerbaren pH durchzuführen. Die im Fermentierungsmedium enthaltene Milchsäure wurde später mit Schwefelsäure abgetrennt, wobei sich eine Säure ergab, die zur Verwendung in der Lebensmittelindustrie geeignet war.

**[0006]** Das vorstehend erwähnte Verfahren brachte erhebliche Nachteile mit sich, da die volle Nutzung des eingesetzten Zuckers auf 80% beschränkt war und die Trennungs- und Reinigungsverfahren zu Verunreinigungsanteilen führten, die höher waren als diejenigen, die mit ihrer Hilfe korrigiert werden sollten.

**[0007]** Daher wurden im Anschluß Verfahren weiterentwickelt, mit deren Hilfe die vorstehend erwähnten Nachteile verhindert werden sollten. Eines dieser Verfahren ist Aufgabe des französischen Patents Nr. 83 18631, das ein kontinuierliches Fermentierungssystem mit verschiedenen Stufen beansprucht, in denen organische Säuren und Zucker schließlich erhalten werden, das sich jedoch als zu kompliziertes technisches Verfahren erwies.

**[0008]** Ein späteres Verfahren ist in US-Patent Nr. 4 698 303 beschrieben, das jedoch ebenfalls einen erheblichen Nachteil insofern mit sich bringt als Proteine mit relativ hohem Molekulargewicht beseitigt werden müssen, um die Milchsäure zu erhalten, wobei es zudem erforderlich ist, daß die Molke zentrifugiert und anschließend ultrafiltriert wird, was zu spezifischen Problemen hinsichtlich der Stärke der verwendeten Membranen führt, so daß der Wirkungsgrad erheblich verringert wird. und Trenntechniken unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel angewandt werden müssen, bei deren Wiedergewinnung es zu zusätzlichen Komplikationen und Fäulen von Verunreinigung käme.

**[0009]** Zwar bieten die beiden obengenannten Patente die Möglichkeit, Milchsäure mit einer Reinheit zu erhalten, die für ihre Verwendung in der Lebensmittelindustrie und zur Herstellung pharmazeutischer Produkte ausreicht, doch kann diese auch bei technischen Verfahren verwendet werden, die im Hinblick auf die Qualität der erhaltenen Milchsäure weniger anspruchsvoll sind, zu denen etwa die Herstellung von Beizmitteln zum Gerben, die Behandlung anderer Oberflächen und die Verarbeitung chemischer Produkte als wichtigste, nicht-einschränkende Beispiele zählen.

**[0010]** Aus US-A-4 699 793 und EP-A-0 147 517 sind Verfahren zur Herstellung von Produkten aus Molke bekannt, die in der Lebensmittelindustrie Verwendung finden.

**[0011]** US-A-4 699 793 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung eines Gewürzes aus Käsemolke. In einem ersten Schritt wird die Molke mit Wachstumsfaktoren (Hefeextrakt, Lactulose, L-Cystein-hydrochlorid und entrahmte Milch) für Milchsäure-Bakterien versetzt. Der pH der Lösung wird auf einen Bereich von 6 bis 7 eingestellt. Die resultierende Lösung wird dann erhitzt, um die Lösung zu sterilisieren. Gleichzeitig werden die Molkeproteine (die wärmeempfindlich sind) denaturiert, koaguliert und ausgefällt. Die resultierende Mischung wird

als Kulturmedium für die Milchsäure-Bakterien im nächsten Schritt verwendet. Die auf diese Weise vorbehandelte Molke wird in einem Fermentierungsschritt mit Hilfe der Milchsäure-produzierenden Bakterien durch Erhitzen und Steuern der pH-Daten vergoren. Die ausgefallenen Proteine werden durch Zentrifugieren abgetrennt und mit einer Mineralsäure oder einem proteolytischen Enzym zersetzt, um eine Gewürzflüssigkeit A zu ergeben. Die Überstandphase wird neutralisiert und eingeeengt, um eine Gewürzflüssigkeit B zu ergeben, und mit der Gewürzflüssigkeit A gemischt. Das beabsichtigte Produkt ist ein schmackhaftes Gewürz aus Molke.

**[0012]** Auch das in EP-A-0 147 517 beschriebene Verfahren führt zu einem Molkeprodukt, das in der Lebensmittelindustrie verwendet wird. Beschrieben wird ein Verfahren zur Abtrennung übelriechender oder unangenehmen Geschmack verleihender Substanzen aus mikrobiellen Zellen oder Gärungsflüssigkeiten, insbesondere vergorener Molke, durch Milchsäure-Bakterien.

**[0013]** Das Verfahren nach EP-A-0 147 517 ist dadurch gekennzeichnet, daß Dampf unter Druck in die vergorene Molke eingeblasen wird. Danach wird die Molke in eine Vakuumatmosphäre überführt und abgekühlt. Die Fermentierung der Molke erfolgt mit einem Milchsäure-produzierenden Bakterium.

**[0014]** Diese Dokumente beschreiben kein Verfahren zur Gewinnung von Molke (die das Nebenprodukt der Käseherstellung ist), die ohne Probleme in die Umwelt abgepumpt werden kann.

**[0015]** Man findet somit, daß durch Einsatz des Verfahrens, das die Aufgabe dieses Patents umfaßt, der Vorteil an sich von erheblichem Wert ist und dadurch erzielt wird, daß man die Beseitigung der verunreinigenden Wirkungen der Molke erreicht, die – wie bereits erwähnt – als Nebenprodukt der Käseherstellung gebildet wird.

**[0016]** Was den vorstehend erwähnten Vorteil anbetrifft, so steht man dem Erfordernis gegenüber, die in der Molke vorliegenden festen Substanzen, im wesentlichen Lactose, die einen Prozentanteil von 4,2% bis 4,7% des Gehalts ausmachen, in einem Medium zu beseitigen, das einen hohen Feuchtigkeitsgehalt (93%–94%) aufweist, und somit unter Bedingungen, bei denen unerwünschte, unkontrollierte Gärung begünstigt ist, wobei die Bakterienzahl recht hoch ist. Besonders hervorzuheben ist auch, daß in dieser Molke hochgradig kontaminierende Substanzen wie etwa Nitrite und einige hochtoxische Metallsalze möglicherweise vorhanden sind.

**[0017]** Das Verfahren zur Behandlung von Molke, die als Nebenprodukt bei der Käseherstellung anfällt, um verunreinigende Substanzen wie Proteine, darunter Albumine und Globuline, und Lactose von der Molke abzutrennen, umfaßt die folgenden Schritte:

- Aufstellen eines ersten Impffermenters (1), der ausgestattet ist mit einem Dampfversorgungssystem (3), einem Temperatursystem und einem pH-Meßgerät;
- Einimpfen eines Inokulums, umfassend *Lactobacillus casei* und Lactose, in den ersten Fermenter (1) und Fermentierung, um so ein Inokulum zu ergeben;
- Überführen des Inokulums in einen zweiten, industriellen Fermenter (2), der die Molke enthält, wobei der Fermenter (2) mit dem Fermenter (1) und einem Alkalitank (4) verbunden ist;
- Aufrechterhalten der Acidität von Fermenter (2) im pH-Bereich 5–6 zur Vermehrung des *Lactobacillus casei*, wobei eine Dosierpumpe verwendet wird, die im Alkalitank (4) bereitgestellt ist und von einem zweiten pH-Meßgerät gesteuert wird, das zur Regulierung der Acidität angeschlossen ist;
- Einleiten von Dampf mit bis zu 120°C und 1,2 Atmosphären Überdruck in den industriellen Fermenter (2), so daß gleichzeitig mit der Sterilisierung der Fermentationsflüssigkeit die Proteine in der Molke ausfallen;
- Führen der Proteine der Molke aus einem Auslaß des Fermenters (2) durch eine Filterpresse (5) zur Abtrennung derselben; und
- Führen der Flüssigkeit durch eine Säule (7) mit Ionenaustauscherharz, um so Nitrite und Substanzen toxischer Metalle abzutrennen.

**[0018]** Vorzugsweise wird das Verfahren mit entproteiniert oder unbehandelter Molke bei einer Fermentationstemperatur im Bereich von 30°C bis 40°C und vorzugsweise bei 38°C durchgeführt. Die Acidität des zweiten Fermenters (2) wird vorzugsweise bei einem pH von 5,4 gehalten.

**[0019]** Bei den zum Zweck der Entwicklung des in dieser Beschreibung dargestellten Verfahrens durchgeführten Untersuchungen und Experimenten wurde gefunden, daß *Lactobacillus casei*, der vom homofermentierenden Typ ist, als Ergebnis der Vergärung von Lactose L-Milchsäure in Anteilen von über 97,5% bildet – je nach der Geschwindigkeit, mit der diese unter variablen experimentellen Bedingungen gebildet wird, wobei die Konzentration des Substrats, die Temperatur, die Konzentration des Inokulums und der pH des Systems besonders hervorzuheben sind.

**[0020]** Das fragliche Verfahren ist im wesentlichen gekennzeichnet durch die Nutzung eines Impffermenters, in dem ein eingeeimpftes Inokulum, umfassend *L. casei* und Lactose, fermentiert wird, um ein Inokulum zu ergeben, wobei der Impff fermenter mit einem Dampfversorgungssystem versehen ist, das die Möglichkeit bietet, den Fermenter zu sterilisieren, der zusätzlich mit einem Temperatursystem und einem pH-Meßgerät versehen ist.

**[0021]** Das so hergestellte Inokulum wird in einen zweiten, industriellen Fermenter verbracht, der mit einem Alkalitank verbunden ist, so daß es möglich ist, die Acidität in diesem Fermenter auf optimalen Werten für das Wachstum der Mikroorganismen zu halten. Zu diesem Zweck ist eine Dosierpumpe an diesem Tank installiert, die von einem pH-Meßgerät gesteuert wird, das zur Regulierung der Acidität dient. In diesem Stadium kann die Fermentierung mit entproteinierter Molke oder unbehandelter Molke erreicht werden, indem der Anteil des Milchsäuregehalts im Bereich von 95% in ersterem Falle behandelte Molke und 65% bis 75% im zweiten Fall variiert wird. Der industrielle Fermenter muß mit Dampf von bis zu 120°C und 1,2 Atmosphären Überdruck versorgt werden. Gleichzeitig mit der Sterilisierung des Fermentationsprodukts werden so die Proteine in der Molke, Albumine und Globuline, ausgefällt und einer Filterpresse zugeführt.

**[0022]** Die Produktion von D-Milchsäure- oder L-Milchsäure-Isomeren, die nicht Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist, richtet sich nach mehreren Faktoren, wie aus den Untersuchungen hervorgeht, die zum Zweck der Entwicklung dieses Verfahrens durchgeführt wurden, wobei entdeckt wurde, daß die Steuerung des pH und der Temperatur, bei denen das Verfahren durchgeführt wird, dazu führt, daß das eingeeimpfte Inokulum die in der Molke verbleibenden Mikroorganismen überwiegt. Von Bedeutung ist auch die Beschaffenheit der zur Alkalisierung des Systems verwendeten Base, wie aus den nachstehend in Tabelle 1 gezeigten Ergebnissen hervorgeht.

Tabelle 1

| Bestimmung von L(+)- und D(-)-Milchsäure |      |                     |            |                 |                 |
|------------------------------------------|------|---------------------|------------|-----------------|-----------------|
| Ergebnisse in g/l                        |      |                     |            |                 |                 |
| Probe                                    | pH   | Base                | Molke (1)  | L(+)-Milchsäure | D(-)-Milchsäure |
| 1                                        | 1,60 | NaOH                | kombiniert | 18,8            | 0,35            |
| 2                                        | 1,86 | NaOH                | kombiniert | 21,8            | 1,50            |
| 3                                        | 1,53 | NH <sub>4</sub> OH  | kombiniert | 10,9            | 7,70            |
| 4                                        | 1,49 | Ca(OH) <sub>2</sub> | kombiniert | 2,5             | 15,70           |

<sup>(1)</sup> Als kombinierte Molke gilt: Ziegenmilch + Kuhmilch

**[0023]** Die Produktion von L-Milchsäure fällt in den Bereich von 93%–96% bei Verwendung von NaOH und beläuft sich insgesamt auf bis zu 58% bei Verwendung von NH<sub>4</sub>OH, wobei sich die Ergebnisse umkehren bei Verwendung von Ca(OH)<sub>2</sub>, so daß dessen Verwendung überaus unratsam ist.

**[0024]** Die letzte Stufe dieses Verfahrens umfaßt das nachfolgende Führen der Flüssigkeit aus dem industriellen Fermenter durch eine Filterpresse, ein Mikrofilter und einige Säulen mit Ionenaustauscherharz, wobei diese Komponenten in dieser Reihenfolge am Auslaß des Hauptfermenters angeschlossen sind.

**[0025]** In der vorstehend erwähnten Filterpresse werden die Molkeproteine – Albumine und Globuline – vom System abgetrennt, wonach direkt anschließend die Bakterienzellen beseitigt werden, indem die Flüssigkeit aus der Filterpresse durch Hohlfaser-Mikrofilter geführt wird.

**[0026]** Mit Hilfe eines Ionenaustauschsystems erhält man schließlich ein Produkt, das einen pH unterhalb 2 aufweist und keine Nitrate oder Substanzen toxischer Metalle enthält. Die toxikologische Analyse der so erhaltenen Milchsäure ist nachstehend in Tabelle 2 gezeigt.

Tabelle 2

| Toxikologische Analyse von L-Milchsäure |                |
|-----------------------------------------|----------------|
| Nitrite                                 | Nicht gefunden |
| Chloride                                | 2,5 mg/l       |
| Phosphate                               | 3,8 mg/l       |
| Calcium-Salze                           | 2,5 mg/l       |
| Magnesium-Salze                         | 0,65 mg/l      |
| Toxische Metalle                        | Nicht gefunden |
| L-Milchsäure                            | 30,88 g/l      |
| D-Milchsäure                            | 2,11 g/l       |
| Lactose                                 | 12,2 g/l       |
| Proteine                                | 3,01 g/l       |

**[0027]** Es sei darauf hingewiesen, daß nach der Durchführung des in diesem Patent beschriebenen Verfahrens ein ausgezeichneter Wirkungsgrad bei der Herstellung von Milchsäure erreicht wird, wobei keinerlei Nitrite und toxische Metalle vorhanden sind, woraus sich ableiten läßt, daß das resultierende Produkt aus hochwertiger L-Milchsäure besteht, die als Konservierungsmittel für Lebensmittel verwendet werden kann.

**[0028]** Zum besseren Verständnis der Aufgabe dieses Patents, zum Zweck der Veranschaulichung und ohne einschränkenden Rahmen soll eine Beschreibung der Einzelheiten einer möglichen Ausführungsform der Erfindung gegeben werden, wobei auf die beigefügte Zeichnung verwiesen sei, in der die schematische Anordnung des Systems gezeigt ist, mit dessen Hilfe dieses Verfahren durchgeführt werden soll.

**[0029]** Wie in der obenerwähnten Zeichnung gezeigt, umfaßt das System einen Impff fermenter (1), vorzugsweise mit einem Fassungsvermögen im Bereich von 5 bis 10% eines industriellen Fermenters (2) zur Herstellung von Milchsäure, mit dem dieser direkt verbunden ist.

**[0030]** Der Fermenter (1) wird durch ein Rührsystem und eine Dampfeinheit (3) unterstützt, die für die notwendige Temperatur für dessen Betrieb sorgt.

**[0031]** Der industrielle Fermenter (2) ist auch mit einem Temperatursystem versehen und ist an einen Alkalitank (4) angeschlossen, der installiert ist, um den pH im Innern des Fermenters zu steuern. Dieser Fermenter (2) ist mit dem zugehörigen Rührer ausgestattet, wobei festgestellt wurde, daß die oberen Schaufeln des Rührers in einer Tiefe hinsichtlich der Oberfläche der Flüssigkeit angeordnet sein sollten, die dem dreifachen Durchmesser des Rührers entspricht.

**[0032]** Im Anschluß an das Verfahren, wie in der Zeichnung gezeigt, wird die Flüssigkeit, nachdem sie im Fermenter (2) behandelt wurde, anschließend durch die Filterpresse (5) und die Mikrofilter (6) geführt, um dann schließlich in den Ionenaustauschkreislauf (7) zu gelangen.

**[0033]** Wie in der Figur gezeigt, umfaßt dieser Kreislauf zylindrischen Behälter (Austauschsäulen), die geeignete Austauscherharze enthalten. Diese Vorrichtung bietet die Möglichkeit der alternierenden Regeneration der gesättigten harzbeladenen Säulen.

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Behandlung von Molke, die als Nebenprodukt bei der Käseherstellung anfällt, um verunreinigende Substanzen wie Proteine, darunter Albumine und Globuline, und Lactose von der Molke abzutrennen, umfassend die Schritte

- Aufstellen eines ersten Impff fermenters (1), der ausgestattet ist mit einem Dampfversorgungssystem (3), einem Temperatursystem und einem pH-Meßgerät;
- Einimpfen eines Inokulums, umfassend *Lactobacillus casei* und Lactose, in den ersten Fermenter (1) und Fermentierung; um so ein Inokulum zu ergeben;

- Überführen des Inokulums in einen zweiten, industriellen Fermenter (2), der die Molke enthält, wobei der Fermenter (2) mit dem Fermenter (1) und einem Alkalitank (4) verbunden ist;
- Aufrechterhalten der Acidität von Fermenter (2) im pH-Bereich 5–6 zur Vermehrung des *Lactobacillus casei*, wobei eine Dosierpumpe verwendet wird, die im Alkalitank (4) bereitgestellt ist und von einem zweiten pH-Meßgerät gesteuert wird, das zur Regulierung der Acidität angeschlossen ist;
- Einleiten von Dampf mit bis zu 120°C und 1,2 Atmosphären Überdruck in den industriellen Fermenter (2), so daß gleichzeitig mit der Sterilisierung der Fermentationsflüssigkeit die Proteine in der Molke ausfallen;
- Führender Proteine der Molke aus einem Auslaß des Fermenters (2) durch eine Filterpresse (5) zur Abtrennung derselben; und
- Führen der Flüssigkeit durch eine Säule (7) mit Ionenaustauscherharz, um so Nitrite und Substanzen toxischer Metalle abzutrennen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Verfahren mit entproteinierter oder unbehandelter Molke bei einer Fermentationstemperatur im Bereich von 30°C bis 40°C und vorzugsweise bei 38°C durchgeführt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Acidität des zweiten Fermenters (2) bei einem pH von 5,4 gehalten wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, wobei mit der Dosierpumpe eine alkalische Base zugeführt wird, um die Acidität des zweiten Fermenters (2) aufrechtzuerhalten, wobei die bevorzugte alkalische Base Natriumhydroxid ist.

5. Verfahren nach Anspruch 1, des weiteren umfassend den Schritt, daß die Flüssigkeit aus dem Auslaß des industriellen Fermenters (2) nacheinander durch eine Filterpresse (5) und ein Mikrofilter (6) geführt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die Flüssigkeit, die die Filterpresse (5) passiert hat, zur Beseitigung von Bakterienzellen durch ein Hohlfaser-Mikrofilter (6) geleitet wird.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

