

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 143584 B

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Ansøgning nr. 1317/78

(51) Int.Cl.³ A 23 J 1/10

(22) Indleveringsdag 22. mar. 1978

C 09 H 1/02

(24) Løbedag 22. mar. 1978

(41) Alm. tilgængelig 23. sep. 1979

(44) Fremlagt 14. sep. 1981

(86) International ansøgning nr. -

(86) International indleveringsdag -

(85) Videreførelsesdag -

(62) Stamansøgning nr. -

(30) Prioritet -

(71) Ansøger J. LILDAL A/S, 8900 Randers, DK.

(72) Opfinder John Swinburn Olds, GB: Alan Jobling, GB.

(74) Fuldmægtig Internationalt Patent-Bureau.

(54) Fremgangsmåde til udvinding af protei-
tein fra knogler samt anlæg til ud-
øvelse af fremgangsmåden.

Knogler, som fremkommer som biprodukter ved udskæring af slagtedyr herunder fjerkræ, har en noget forskellig sammensætning, afhængigt af hvilke skeletdele der er tale om og afhængigt af alderen og arten af de dyr, hvorfra knoglerne stammer. Generelt antages det, at friske knogler består af ca. 25-56% uorganisk tørstof, hovedsageligt calciumphosphater, ca. 14-44% vand og ca. 16-36% organisk materiale, af hvilket i typiske tilfælde ca. 17% (beregnet på vægten af de friske knogler) udgøres af proteinmateriale, medens resten hovedsageligt er fedt.

Det nævnte protein foreligger i knoglerne i det væsentlige som kollagen.

Det er kendt at udvinde dette som kollagen foreliggende

DK 143584 B

protein fra knogler under opnåelse af glutin-holdige materialer, der kan anvendes f.eks. som lim, som gelatine (til anvendelse ved fremstilling af nydelsesmidler, næringsmidler, substrater til mikroorganismer eller til tekniske formål, specielt i den fotografiske industri samt ved fremstilling af trykfarver og -valser) og som komponent i pulver- og dåsesupper.

Der kendes adskillige fremgangsmåder til udvinding af proteinet fra knogler.

Ved en første type af disse fremgangsmåder foretages først en affedtning af knoglerne og derefter fjernes de uorganiske bestanddele ved passende behandlinger med syrer og/eller baser til opnåelse af et produkt benævnt ossein, som indeholder 70-80% kollagen. Dette omdannes derpå til opløselig glutin ved behandling i flere omgange med vand af stigende temperatur. Fremgangsmåderne af denne art er imidlertid overordentligt tidskrævende, idet den totale proces andrager flere måneder, og de opnåede glutinopløsninger er af lav koncentration, idet de gennemsnitligt indeholder kun ca. 5% glutin, hvorfor der til opnåelse af det ønskede pulverformige eller pladeformige slutmateriale må foretages en vidtgående inddampning, som for at undgå kvalitetsforringelse må ske som en relativt kostbar vakuuminddampning.

Ved en anden type af de kendte fremgangsmåder udvinder man proteinmaterialet fra knoglerne uden forudgående fjernelse af de uorganiske bestanddele.

Sådanne fremgangsmåder er f.eks. beskrevet i USA patentbeskrivelserne nr. 1.086.149, 2.748.152 og 2.881.158.

Disse fremgangsmåder bygger på den erkendelse, at kollagenet i knoglerne kan omdannes til vandopløselig glutin, når knoglerne behandles med damp ved overatmosfærisk tryk.

Selvom selve den kemiske omdannelse af kollagen til glutin kan afsluttes på få minutter ved behandling med damp ved f.eks. 3-4 atmosfæres overtryk, svarende til en temperatur på 135-145°C, er der dog ved de kendte processer problemer med at udlude den dannede glutin, som følge af at denne bindes i knoglestrukturens mikroporer. Herved vil opløseliggjort, men ikke udludet glutin hindre effektiv kontakt mellem damp og endnu ikke omdannet kollagen, hvorfor der ved anvendelse af disse kendte fremgangsmåder kun opnås opløsninger med meget ringe koncentration af glutin, eller der anvendes en meget langvarig autoklavkogning (8-9 timer), hvilket medfører en væsentlig forringelse af kvaliteten af det opnåede

produkt. Selv i sidstnævnte tilfælde vil den opnåede opløsning kun indeholde få procent af den ønskede glutin, hvorfor der fordres en besværlig og energikrævende inddampning, før opløsningen kan tørres. Ved andre kendte metoder af denne art, ved hvilke der navnlig lægges vægt på opnåelse af et produkt med god gelatinerings-evne, anvendes, som det f.eks. er beskrevet i ovennævnte USA-patent-skrift nr. 2.881.158 talrige på hinanden følgende udludningsoperationer, i typiske tilfælde 12 på hinanden følgende udludninger hver med en varighed på ca. 2 timer. De herved opnåede ekstrakter indeholder kun ganske få procent glutin, og slutproduktets gelatinerings-evne er ikke fuldt tilfredsstillende.

Det har nu vist sig, at det er muligt at opnå væsentligt mere koncentrerede glutinopløsninger og særligt gode produktkvaliteter, hvis dampbehandlingen finder sted, medens knoglerne er udsat for en centrifugalacceleration af en bestemt størrelse.

Opfindelsen angår i overensstemmelse hermed en fremgangsmåde til udvinding af protein fra knogler, ved hvilken knoglernes kollagen opløseliggøres ved behandling med damp ved tryk større end 1 atmosfære, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at behandlingen finder sted, eventuelt under tilsætning af vand, medens de fugtige, knuste knogler befinder sig i en i en trykbeholder roterende centrifugekurv, hvori de udsættes for en centrifugalacceleration på mindst 5 g, idet behandlingen afpasses således, at der opnås en proteinopløsning med en koncentration på mere end 10 vægt%, hvorpå opløsningen om ønsket tørres på i sig selv kendt måde.

Årsagen til at der opnås særligt gode resultater med fremgangsmåden ifølge opfindelsen antages at være, at den relativt koncentrerede opløsning, som dannes i knoglernes porer ved opløsning af det omdannede kollagen i det i knoglerne oprindeligt værende vand suppleret med en mindre mængde vand stammende fra dampens kondensation og eventuelt tilsat vand, under centrifugalaccelerationens indvirkning hurtigt efter sin dannelse udslynges fra knoglernes porer og herved åbner mulighed for dannelse og udslyngning af yderligere opløsning dybere inde i disse.

Resultatet heraf er, at mere end 80% af det i knoglerne værende protein kan udtages som en opløsning med en koncentration på ca. 20 vægt% ved en behandlingstid på mindre end 30 minutter. Det er af væsentlig betydning for processens totaløkonomi, at opløsningerne kan fås direkte med så stor koncentration, som tilfældet er, idet de herved er egnede til direkte tørring, f.eks. ved forstøvningstørring, således at en forudgående inddampning

overflødigsgøres og et vakuuminddampningsapparat, som er en nødvendig del af de kendte anlæg til glutinudvinding, derfor ikke er nødvendigt ved fremgangsmådens udøvelse.

Det har vist sig, at gelateringsevnen (Bloom-styrken) for produktet, som opnås ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, er væsentligt større end for de produkter, der opnås ved de ovennævnte beslægtede fremgangsmåder, omend den dog ikke er fuldt på højde med gelateringsevnen af materialer, som udvindes via ossein.

Selvom den i de rå knogler tilstedeværende vandmængde i og for sig er tilstrækkelig til under de ved fremgangsmåden herskende betingelser at bringe den totale mængde kollagen i opløsning, foretrækkes det ifølge opfindelsen under en del af dampbehandlingen at tillede vand til centrifugekurvens indre, da man herved fremmer varmeoverførslen til det indre af det lag, som de knuste knogler under centrifugeringen danner langs centrifugekurvens perforerede periferivægge.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes fortrinsvis et damptryk på 2,5-4 at i centrifugen, idet der ved den hertil svarende temperatur (ca. 140-152°C) sker en passende hurtig omdannelse af kollagenet til glutin, samtidig med at en yderligere omdannelse til mere lavmolekylære produkter kun finder sted i begrænset omfang ved de behandlingstider, som kommer i betragtning.

Som udgangsmateriale kan anvendes såvel affedtede som uaffedtede knogler. Det vil sædvanligvis foretrækkes at anvende affedtede knogler, da man i så fald opnår et større fedtudbytte og en proteinopløsning, som kan tørres umiddelbart, medens man ved anvendelse af uaffedtede knogler sædvanligvis må fjerne fedt fra proteinopløsningen, f.eks. ved centrifugering, før opløsningen tørres.

En foretrukken udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at den proteinholdige opløsning, som udslynges fra centrifugekurvens periferi, udtages fra bunden af den som centrifugehus tjenende trykbeholder og tilbageføres til centrifugekurvens centrale del og herved atter bringes i kontakt med knoglerne. Denne udførelsesform har vist sig særlig fordelagtig til hurtigt at opnå en opløsning med stor glutinkoncentration, og processen er ved denne udførelsesform særlig let at styre til opnåelse af ensartede resultater, idet man simpelthen ved hver udførelse kan fortsætte tilbageførelsen, indtil opløsningen har fået en forud fastsat koncentration, som let lader sig bestemme f.eks. med refraktometer.

Størrelsen af den anvendte centrifugalacceleration er som anført mindst fem gange tyngdeaccelerationen, og den afhænger i det enkelte tilfælde af hvilket knoglemateriale der behandles, dvs. om det er knogler fra svin, kvæg eller fjerkræ og af knusningsgraden. Centrifugalkraften skal være tilstrækkelig til at sikre, at knoglematerialet fordeles og danner et ensartet lag på indersiden af centrifugekurvens periferivægge. Der vil i typiske tilfælde anvendes en centrifugalacceleration på ca. 30 g, idet en væsentlig større acceleration vil bevirke, at laget af knuste knogler bliver så tæt, at passagen af vand og proteinopløsning herigennem hæmmes for meget. Endvidere vil omdrejningstal væsentligt større end, hvad der svarer til ca. 30 g give afbalanceringsproblemer ved centrifuger af den størrelse, som i praksis kommer i betragtning ved udøvelse af fremgangsmåden.

En yderligere foretrukken udførelsesform for fremgangsmåden er ifølge opfindelsen ejendommelig ved, at der gennem den i centrifugekurven værende knoglemasse cirkuleres en vandmængde svarende til 10-15 vægt% af de fugtige knoglers vægt i et tidsrum mellem 15 og 45 minutter, hvorefter den opnåede proteinopløsning erstattes af en tilsvarende mængde frisk vand og processen gentages en eller flere gange. Ved anvendelse af vandmængder af nævnte størrelsesorden og recirkulationsperioder af nævnte varighed vil man i typiske tilfælde kunne afslutte behandlingen af en charge knuste knogler på mindre end 2 timer, idet der anvendes tre recirkuleringsperioder. Under den første af disse perioder udvindes langt den overvejende mængde af det udvindelige protein, f.eks. mere end 80%, og i den anden recirkulationsperiode udvindes praktisk taget den resterende del af det udvindelige protein, medens den tredje og sidste recirkulationsperiode hovedsageligt tjener til at opnå en renere remanens af knoglerester i centrifugekurven.

Det er en særlig fordel ved fremgangsmåden, at den ved en så kort behandlingstid er i stand til at give en særligt stor renhed af den hovedsageligt af calciumphosphater bestående uorganiske knogleremanens, idet værdien af dette materiale i høj grad øges med dets renhed. Således kan der ved anvendelse af nævnte tre cirkulationsperioder opnås en knogleremanens med et indhold af nitrogenholdige forbindelser, som er lavere end hvad der svarer til 1% nitrogen bestemt ved Kjeldahl-analyse, hvorfor dette sterile materiale efter tørring og formaling vil være af en kvalitet, som kan anvendes

direkte som kosttilskud eller tilsætning til næringsmidler.

En særlig fordel ved at recirkulere opløsningen er endvidere, at man herved drager fordel af den filtrerende virkning, som udøves af laget af knuste knogler i centrifugen. Herved opnås, at den resulterende proteinopløsning fremkommer med et så ringe indhold af faste partikler, at det til de fleste anvendelser ikke vil være nødvendigt at foretage nogen filtrering af opløsningen, før denne tørres.

Opfindelsen angår endvidere et anlæg til anvendelse ved udøvelse af fremgangsmåden, hvilket anlæg er ejendommeligt ved, at det omfatter (a) en centrifuge med et som trykbeholder udformet centrifugehus tilsluttet en kilde for damp af tryk større end 1 atmosfære, med en på en lodret hul aksel fastgjort centrifugekurv af i sig selv kendt konstruktion, med en variabel drivanordning til rotation af den hule aksel og dermed af centrifugekurven, samt med et pakningsorgan af i sig selv kendt konstruktion som muliggør indpumpning af væske under tryk i centrifugekurven gennem den hule aksel, (b) en tryktank forbundet med en afgangsåbning for væske i centrifugehusets bund, samt (c) en med et drivorgan forsynet pumpe indskudt mellem væskeafgangsåbning i tryktanken og en væsketilførselsåbning i nævnte pakningsorgan.

Opfindelsen illustreres nærmere under henvisning til tegningen, som skematisk og delvis i snit viser en udførelsesform for et anlæg ifølge opfindelsen.

På tegningen er vist en centrifuge, betegnet 1 med et centrifugehus 2, som har et aftageligt låg 3. Delene 2 og 3 er konstrueret med sådanne dimensioner og kan sammenføjes således, at der med rimelig sikkerhed kan arbejdes med et tryk i centrifugehusets indre på mindst 4 at. Centrifugehuset er forsynet med et tilførselsrør 4, som er sluttet til en (ikke vist) dampkilde.

I centrifugehuset findes en centrifugekurv 5, hvis periferivægge er forsynet med (ikke viste) perforeringer. Disse perforeringer kan i typiske tilfælde være borede huller med en diameter på 2-4 mm og en indbyrdes afstand på ca. 15 mm.

Centrifugekurven 5 er i den viste udførelsesform forsynet med et aftageligt låg 6.

Centrifugekurven 5 er, f.eks. ved en passende (ikke vist) medbringeranordning, anbragt aftageligt på en hul aksel 7, som støttes af et leje 8 i centrifugehusets bund.

Den hule aksel 7 er i den del, som når uden for centri-

fugehuset, forsynet med periferihuller 9, som er omgivet af et pakningsorgan 10.

Den nedre ende af akslen 7 er forbundet til et drivorgan 11, som fortrinsvis er en hydraulisk motor, da denne på enkel måde sikrer en trinløs regulering af omdrejningshastigheden for centrifugekurven.

I bunden af centrifugehuset findes en afgangsåbning 12, som via en ventil er sluttet til en tryktank 13. Fra den nedre del af tryktanken 13 fører et afgangsrør 14 til en pumpe 15, som via et rør 16 er sluttet til det ovennævnte pakningsorgan 10.

Ved fremgangsmåden udøvelse indføres knogler, som er knust til en gennemsnitlig partikelstørrelse på ca. 2 cm i centrifugekurven, hvilken indførelse fortrinsvis sker efter at centrifugekurven er udtaget fra centrifugehuset, hvorpå centrifugekurven fastgøres på akslen 7 i centrifugehuset. Fortrinsvis indføres endvidere vand i systemet i en mængde svarende til 10-25 vægt% af knoglernes vægt. Herefter fastspændes låget 3, drivorganet 11 startes, og der tilføres damp gennem ledningen 4 til opnåelse af et tryk på 2,5-4 ato i centrifugehuset 2.

Ved centrifugalkraftens indvirkning fordeler massen af knuste knogler sig i et jævnt lag 17 på centrifugekurvens indre periferivægge. Fra tryktanken 13 udtages vand, som via afgangsrøret 14, pumpen 15, røret 16, pakningsorganet 10 og hullerne 9 strømmer gennem den hule aksel 7 til det indre af centrifugekurven 5, hvor det fordeler sig på indersiden af knoglemasselaget 17. Vandet opvarmes hurtigt af dampen, som har en temperatur på ca. 140°C, og vandet virker derfor som varmeoverføringsmedium, når det under centrifugalkraftens indflydelse strømmer gennem knoglemassen. Når knoglemassen har opnået en tilstrækkelig temperatur, hvilket, afhængigt af tykkelsen af laget 17, f.eks. kan være sket efter 10 minutters forløb, udslynges proteinopløsning gennem hullerne i centrifugekurvens vægge, hvilken opløsning samler sig i centrifugehusets bund, hvor den udtages gennem 12 og tilbageføres til centrifugekurvens indre som beskrevet ovenfor.

I tryktanken 13 eller i et af rørene 14 eller 16 forefindes hensigtsmæssigt et ikke vist organ, som muliggør stadig analyse af den cirkulerende opløsning, f.eks. refraktometrisk bestemmelse af dennes koncentration.

Når sidstnævnte analyse viser, at opløsningen har nået den ønskede koncentration, udtømmes opløsningen gennem en hane 18, som i den viste udførelsesform er sluttet til røret 16.

Herefter kan der atter indføres vand i anlægget, og processen gentages som beskrevet ovenfor.

Fremgangsmåden illustreres nærmere ved hjælp af følgende udførelseseksempel.

Eksempel

Der blev anvendt et anlæg som det på tegningen skitserede. Centrifugekurvens diameter var 157 cm og dens højde 130 cm svarende til en overflade for den perforerede periferiflade på ca. 5 m².

I denne centrifugekurv blev indført 1400 kg knuste affedtede knogler stammende fra kvæg. Den gennemsnitlige partikelstørrelse for de knuste knogler var ca. 2 cm.

Centrifugekuven blev herefter pålagt låg og indsat i centrifugehuset, hvorpå låget til dette blev fastspændt.

I tryktanken 13 blev indført 250 l koldt vand, og en i røret 4 indskudt ventil blev åbnet, hvorved det indre af centrifugehuset blev tilsluttet en kilde for mættet damp med tryk på 3,5 ato, svarende til ca. 140°C.

Ved hjælp af en hydraulisk motor 11 blev centrifugekurven bibragt en rotation på ca. 200 omdrejninger pr. minut, hvorved knoglemassen fordelte sig i et jævnt lag 17 langs centrifugevæggen.

De nævnte omdrejningstal svarer til en centrifugal-acceleration i de ydre dele af laget på ca. 30 g.

Vandet fra tryktanken 13 pumpes med pumpen 15 via den hule aksel 7 til centrifugekurvens indre, hvor det ved kontakt med dampen hurtigt antager en temperatur på op mod 140°C. Vandet fordeler sig på indersiden af laget af knoglemasse og trænger ind i dette, således at knoglemassen efter 10-15 minutters forløb også antager en temperatur på op mod 140°C.

På dette tidspunkt udslynges en glutinopløsning med stor koncentration fra centrifugekurven. Denne opløsning ledes, efterhånden som den samler sig i centrifugehusets bund, gennem afgangsåbningen 12 til tryktanken 13, hvorfra den atter pumpes tilbage gennem den hule aksel til centrifugekurvens indre.

Ved prøveudtagninger gennem ledningen 18 kontrolleres forøgelsen af den cirkulerende opløsnings koncentration. Efter 30 minutters forløb er koncentrationen steget til ca. 26%, hvorefter den totale

væskemængde udtømmes gennem 18. Der fås herved 580 kg glutinopløsning, som indeholder 3/4 af det i knoglerne oprindeligt tilstedeværende protein.

Herefter indføres atter 250 liter vand i tryktanken 13, og recirkuleringen fortsættes under uændrede betingelser. Efter 30 minutters recirkulering udtages opløsningen, som udgør 300 kg, med en proteinkoncentration på ca. 18%. Denne opløsning, der ligesom den ved første behandling vundne opløsning, er helt klar, forenes med førstnævnte opløsning, og blandingen forstøvningstørres på i sig selv kendt måde under anvendelse af en indgangstemperatur for tørreluften på ca. 180°C. Herved opnås et næsten hvidt pulver egnet som tilsætning til nærings- og nydelsesmidler eller til limfremstilling. Fysiske egenskaber og kemisk sammensætning er i det væsentlige som for kommercielt tilgængelig ren gelatine, dog er dobbelt Bloom-styrken kun ca. 100 gram, som følge af den anvendte fremgangsmåde. Dette er dog en større værdi end der kan opnås for hovedfraktionen af produktet ved de af de kendte fremgangsmåder, hvor der heller ikke fremstilles osein som mellemprodukt.

Med henblik på rensning af knoglemassen i centrifugen indføres en yderligere portion vand, som recirkuleres. Den proteinopløsning, der opnås herved, er så tynd, at den med fordel lader sig anvende til behandling af en frisk portion knogler.

Herefter aflastes trykket fra centrifugehuset og knoglemassen udtages. Denne masse er så ren, at den ved Kjeldahl-analyse kun viser et nitrogenindhold på 1 vægt%, beregnet på tørstof. Dette vil sige, at det tørrede og formalede materiale har tilstrækkelig renhed til at kunne anvendes som tilsætning til næringsmidler.

P A T E N T K R A V

1. Fremgangsmåde til udvinding af protein fra knogler ved hvilken knoglernes kollagen opløseliggøres ved behandling med damp ved tryk større end 1 atmosfære, k e n d e t e g n e t ved, at dampbehandlingen finder sted eventuelt under tilsætning af vand, medens de fugtige, knuste knogler befinder sig i en i en trykbeholder roterende centrifugekurv, hvori de udsættes for en centrifugalacceleration på mindst 5 g, idet behandlingen afpasses således, at der opnås en proteinopløsning med en koncentration på mere end 10 vægt-%, hvorpå denne om ønsket tørres på i sig selv kendt måde.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at behandlingen udføres ved et damptryk på 2,5-4 ato.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at proteinholdig opløsning, som udslynges fra centrifugekurvens periferi, udtages fra trykbeholderens bund og tilbageføres til centrifugekurvens centrale del og herved atter bringes i kontakt med knoglerne.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 2, k e n d e t e g n e t ved, at der gennem den i centrifugekurven værende knoglemasse cirkuleres en vandmængde svarende til 10-25 vægt-% af de fugtige knoglers vægt i et tidsrum mellem 15 og 45 minutter, hvorefter den opnåede proteinopløsning erstattes af en tilsvarende mængde frisk vand og processen gentages en eller flere gange.

5. Anlæg til anvendelse ved udøvelse af fremgangsmåden ifølge et vilkårligt af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved, at det omfatter (a) en centrifuge (1) med et som trykbeholder udformet centrifugehus (2) tilsluttet en kilde for damp af tryk større end 1 atmosfære, med en på en lodret hul aksel (7) fastgjort centrifugekurv (5) af i sig selv kendt konstruktion, med en variabel drivanordning (11) til rotation af den hule aksel og dermed af centrifugekurven, samt med et pakningsorgan (10) af i sig selv kendt konstruktion, som muliggør indpumpning af væske under tryk i centrifugekurven gennem den hule aksel, (b) en tryktank (13) forbundet med en afgangsåbning (12) for væske i centrifugehusets bund, samt (c) en med et drivorgan forsynet pumpe (15) indskudt mellem et væskeafgangsrør (14) sluttet til tryktanken og et væsketilførselsrør sluttet til pakningsorganet (10).

Fremdragne publikationer:

