



Wirtschaftspatent

Erteilt gemaeß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

ISSN 0433-6461

(11)

0153 462

Int.Cl.³

3(51) A 23 J 1/18

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP A 23 J/ 206 064

(22) 10.06.78

(45) 13.01.82

(71) INSTITUT FUER ENZYMOLOGIE UND TECHNISCHE MIKROBIOLOGIE 1017 BERLIN,;DD;

(72) LUTHER, HORST, DIPL.-CHEM.,; PETZOLD, GUENTER, DR. DIPL.-CHEM., DD

(73) siehe (72)

(74) DIPL.-CHEM. BRIGITTE THOMAS, INSTITUT FUER TECHNISCHE MIKROBIOLOGIE (ITM), 1017 BERLIN, ALT-STRALAU 62

(54) VERFAHREN ZUR GEWINNUNG VON PROTEIN FUER DIE MENSCHLICHE ERNAEHRUNG

(57)Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von Protein fuer die menschliche Ernahrung aus Hefe. Das Protein eignet sich besonders fuer die Herstellung von Strukturaten. Das Wesen der Erfindung besteht in der Veraenderung der Eigenschaften des Proteins, so daß die Abtrennung sowohl der Zellen und Zellfragmente als auch des Proteins mit den ueblichen Trennapparaten moeglich ist und ein Protein mit guten Eigenschaften erhalten wird. Das Verfahren zur Gewinnung von Protein aus Hefe durch mechanischen Aufschluß, wobei waehrend oder gleich nach dem Aufschluß die Lipide durch eine waeißrig-alkoholische Loesung und die Nucleinsauren durch alkalische Hydrolyse entfernt werden, ist dadurch gekennzeichnet, daß die alkalische Proteinloesung mit entrahmter Frischmilch versetzt und beide Proteine als Kopraezipitat gefaellt werden.

206064 -1-

a) Titel

Verfahren zur Gewinnung von Protein für die menschliche Ernährung

b) Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von biologisch hochwertigem, strukturierbarem Protein für die menschliche Ernährung, gewonnen aus Hefe und tierischem Protein.

c) Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Die Gewinnung von Protein aus Mikroorganismen ist sowohl über den chemischen als auch den mechanischen Aufschluß realisierbar. In einer Vielzahl von Patenten sind Varianten zu diesen Methoden beschrieben.

Beim mechanischen Aufschluß werden die Zellen in der Regel, außer beim Gefrierpressen, stärker als beim chemischen Aufschluß zerstört. Dadurch entstehen Schwierigkeiten beim Abtrennen der Zellwände, die sich in der Praxis häufig als ein entscheidendes Problem bei der Realisierung eines Verfahrens erweisen. Die geringen Dichtenunterschiede zwischen den zerstörten Zellen und dem mit löslichen Bestandteilen der Hefezellen angereicherten Suspensionsmittel erfordern die Anwendung starker Schwerefelder (DE-OS 2 308 312, DE-OS 2 359 900) oder von Flockungshilfsmitteln zur Förderung der Agglomeration der Zellen bzw. Zellfragmente zu grobdispersen Suspensionen (DE-AS

1 243 646, DE-OS 2 159 028) bzw. eine Dialyse (JP 72-16, 797), Elektrophorese (ES 369 944, SU-PS 251 292) oder Ultrafiltration (DE-OS 2 344 317).

In den SU-PS 246 525 und 274 059 sowie in dem DD-WP 129 803 ist zur Beseitigung der Trennschwierigkeiten vorgesehen, entwässerte Biomasse mit Lösungsmitteln zu behandeln, um die Lipide zu extrahieren und danach den Zellaufschluß vorzunehmen. Weiterhin ist seit langem bekannt (US-PS 2 536 171 und 3 958 038), daß sich die Filtrationsfähigkeit gezüchteter Biomasse durch einen Zusatz von Fremdprotein, z. B. Pflanzenprotein oder Kasein, verbessern läßt. Wird die so gewonnene Biomasse direkt verfüttert, so ist ihr ernährungsphysiologischer Wert durch den Fremdproteinzusatz aufgewertet. Dieser Vorteil geht aber verloren, wenn aus der Biomasse nach den bisher bekannten Verfahren ein Proteinisolat für die menschliche Ernährung hergestellt wird.

Die funktionellen bzw. ernährungsphysiologischen Eigenschaften der Proteinisolate aus Mikroorganismen werden häufig durch den Zusatz von Fremdstoffen, z. B. Polysacchariden, Pflanzenproteinen oder Kasein, aufgewertet oder für die Erschließung neuer Applikationsgebiete gemeinsam verarbeitet.

Die Herstellung von Strukturaten aus Kasein, Pflanzenprotein und Hefeprotein ist ebenfalls bekannt (z. B. DD-WP 93 096).

Unter besonderer Berücksichtigung der Gewinnung hochwertiger Proteine für die Verwendung in Nahrungsmitteln weisen die bekannten Verfahren Nachteile auf, wie ungenügende Proteinreinheit, geringe Ausbeute oder ungenügende funktionelle Eigenschaften. Bei der Aufwertung der Proteine aus Hefe werden diese nach ihrer Isolierung mit anderen, ebenfalls schon isolierten, pflanzlichen bzw. tierischen Proteinen gemischt und dann weiterverarbeitet. Durch diese

Verfahrensweise ergänzen sich die Eigenschaften der Einzelproteine additiv.

d) Ziel der Erfindung

Die Erfindung verfolgt das Ziel, ein ökonomisches Verfahren zur Herstellung eines besonders für die Nahrungsmittelindustrie geeigneten Proteinisolates auf Grund seiner funktionellen Eigenschaften unter Vermeidung der Trennprobleme zu entwickeln.

e) Darlegung des Wesens der Erfindung

Das Wesen der Erfindung besteht in der Veränderung der Eigenschaften des Proteins, so daß die Abtrennung der Zellfragmente und des Proteins mit den üblichen Trennapparaten möglich und die Herstellung eines hochwertigen Strukturates realisierbar ist.

Erfindungsgemäß wird das dadurch erreicht, daß nach einer relativ schonenden Extraktion der Proteine und Lipide aus der Biomasse auf bekannte Weise nach dem Aufschluß Koprazipitate aus Hefeprotein und Milchprotein hergestellt werden, die sich durch verbesserte Eigenschaften, wie hohe Reinheit, geringer Lipid- und Nucleinsäuregehalt, hoher ernährungsphysiologischer Wert und gute funktionelle Eigenschaften, gegenüber den herkömmlichen Proteinisolaten bzw. Proteinmischungen auszeichnen.

Dabei wird so vorgegangen, daß vor der Proteinextraktion aus der Hefe nach bekannten Verfahren die Hefepaste oder -suspension einem mechanischen Zellaufschluß in wäßriger oder wäßrig-alkoholischer Phase (C_1 - bis C_3 -Alkohole, insbesondere Isopropanol) unterworfen und gleichzeitig oder anschließend die Lipidextraktion in einer oder mehreren Stufen durchgeführt wird, wobei in der letzten Extraktionsstufe der Anteil des Alkohols in der Suspension mindestens 80 Vol.-% betragen sollte.

Zur Gewinnung eines qualitativ hochwertigen Proteins werden nach dem mechanischen Aufschluß die wasserlöslichen Proteinanteile abgetrennt. Die Nucleinsäureentfernung bzw. -hydrolyse und die Proteinextraktion erfolgen auf bekannte Weise im alkalischen Bereich.

Die wäßrige und die alkalische Proteinlösung werden vereinigt, auf pH 6,5 bis 8,5 eingestellt und gemäß der Erfindung mit so viel entrahmter Frischmilch versetzt, daß das gewonnene Kopräzipitat zu 10 bis 50 % aus Kasein besteht. Zur Ausbildung eines groben Kornes wird die Suspension nach der Ausfällung des Kopräzipitates 20 bis 40 Minuten bei 30 bis 60 °C behandelt. Das Kopräzipitat fällt dabei in so einer groben Suspension an, daß es leicht abgetrennt und mehrmals gewaschen werden kann. Auf diese Weise wird ein Produkt mit hohem Proteingehalt, geringem Lipid- und Nucleinsäuregehalt und verbesserten funktionellen Eigenschaften (z. B. Löslichkeit, Spinnbarkeit und Ge-
liervermögen) erhalten.

Die folgende Gegenüberstellung der funktionellen Eigenschaften eines Proteingemisches aus gleichen Anteilen an Hefeprotein und Kasein mit denen eines nach dem vorliegenden Verfahren gewonnenen Kopräzipitates (Hefeprotein : Kasein = 1 : 1) soll die Verbesserung der Eigenschaften verdeutlichen:

Eigenschaft	Kopräzipitat (Hefeprotein:Kasein = 1:1)	Proteingemisch
1) Viskosität		
für 18 % Protein		
0,8 % Alk.		
65 °C		
bei D = 81,0	51,6 P	6,4 P
25 °C		
bei D = 1,8	1010,0 P	280,0 P
für 1,5 % Alkali		
65 °C		
D = 81,0	4,0 P	0,75 P
25 °C		
D = 3,0	870,0 P	59,0 P

Eigenschaft	Kopräzipitat (Hefeprotein:Kasein = 1:1)	Proteingemisch
2) Homogenität	homogen gelöst	Quellkörper
3) Fadenziehver- mögen	gut	pulsierender Faden
4) Wasserbindungs- vermögen (%)	270	230
5) Löslichkeit		
pH = 10	100 %	57,3 %
pH = 8	53,6 %	ca. 17,5 %

f) Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll nachstehend an einigen Ausführungsbeispielen näher erläutert werden:

Beispiel 1

Eine Backhefesuspension mit 10 % Trockenmasse wird in einer Kugelmühle (Dyno-Mühle) aufgeschlossen, mit 2 Volumenteilen iso-Propanol homogenisiert und nach dem Zentrifugieren das Sediment nochmals mit iso-Propanol im Verhältnis Sediment zu Alkohol = 1 : 10 Vol.-Teile 45 Minuten bei Raumtemperatur intensiv gerührt.

Der Feststoffanteil wird abzentrifugiert oder abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen, anschließend in der ca. 5fachen Menge Wasser suspendiert und mit Natronlauge auf pH 12,3 eingestellt. Die Extraktion des Proteins unter gleichzeitiger Nucleinsäurehydrolyse erfolgt unter Rühren bei 70 °C innerhalb von 45 Minuten. Nach dem Abtrennen der Zellwände durch Zentrifugation bzw. Separation wird bei ca. 10 bis 20 °C mit Mineralsäure der pH-Wert auf 9,0 eingestellt und so viel Magermilch zugegeben, daß der Proteinanteil beider Rohstoffe gleich wird.

Anschließend wird das Kopräzipitat bei pH 4,6 mit Mineralsäure ausgefällt. Zur Vergrößerung des Kornes wird die Suspension anschließend auf 45 °C erwärmt und bei dieser Temperatur 30 Minuten langsam gerührt. Nach dem Zentrifu-

gieren wird das Koppräzipitat mit angesäuertem Wasser zweimal gewaschen und anschließend getrocknet.

Die Ausbeute beträgt bei diesem Beispiel 65 bis 75 %. Dabei wird ein Produkt mit folgenden Eigenschaften erhalten:

Trockenmasse:	91,6 %
Reinprotein:	mindestens 77 %
Kohlenhydrate:	4,9 %
Lipide:	1,7 %
Nucleinsäure:	0,9 %
Löslichkeit bei pH 10	= 100 %
Wasserbindevermögen:	280 %
Molekulargewichtsverteilung:	wenig niedermolekulare Einheiten
rheologisches Verhalten:	18 %ige Lösung bei pH = 9,5, 65 °C und $\tau = 2061 \text{ dyn/cm}^2 = 127 \text{ P}$
Fadenziehvermögen:	18 %ige Lösung mit Alkaligehalten von 0,6 bis 1,6 bei unterschiedlichen Temperaturen = gut
Gelbildung:	18 %ige bis 25 %ige Suspension bei pH-Werten nahe dem Neutralpunkt = gut

Beispiel 2

Eine 5 %ige Suspension aus Futterhefe (*Candida utilis*), die 50 Vol.-% iso-Propanol enthält, wird mittels einer Kugelmühle aufgeschlossen, zentrifugiert und das Sediment nochmals mit iso-Propanol im Verhältnis zu Alkohol = 1 : 8 bis 15 Vol.-Teile bei Raumtemperatur 30 Minuten homogenisiert.

Die weitere Aufbereitung kann analog Beispiel 1 erfolgen.

Beispiel 3

Brauereihefe wird auf eine Trockenmasse von 10 bis 15 % abgepreßt und mittels Gefrierpressen aufgeschlossen. Durch Zugabe der 8fachen Menge iso-Propanol und Homogenisieren erfolgt die Lipidextraktion. Nach dem Abtrennen des Alkohols wird das Koppräzipitat gemäß Beispiel 1 isoliert.

Beispiel 4

Stellhefe wird nach Beispiel 3 aufgeschlossen. Die Paste wird mit Wasser gemischt und der nicht lösliche Teil abzentrifugiert. Der Überstand wird mit der 8fachen Menge iso-Propanol behandelt und abgetrennt.

Der unlösliche Bestandteil nach dem Aufschluß wird entsprechend Beispiel 1 aufgearbeitet zum Proteinat.

Das weitgehend nativ gewonnene Protein aus dem wäßrigen Überstand (ca. 40 bis 50 % vom Gesamtprotein) wird in dem nach Beispiel 1 gewonnenen Proteinat gelöst. Die weitere Verarbeitung erfolgt nach Beispiel 1.

Die Ausbeute beträgt bei diesem Beispiel 75 bis 85 %. Das Produkt zeichnet sich durch folgende Eigenschaften aus:

Trockenmasse:	91,2 %
Reinprotein:	mindestens 80 %
Kohlenhydrate:	5,2 %
Lipide:	1,9 %
Nucleinsäure:	2,8 %
Löslichkeit bei pH 10	= 100 %
Wasserbindevermögen	= 300 %
Molekulargewichtsverteilung	entspricht einem schonend isolierten Protein
rheologisches Verhalten:	18 %ige Suspension bei pH = 9,3, 65 °C und $\eta = 2061 \text{ dyn/cm}^2 = 183 \text{ P}$
Fadenziehvermögen:	18 %ige Lösung mit Alkaligehalten von 0,6 bis 1,2 % bei unterschiedlichen Temperaturen = gut
Gelbildung:	18 %ige bis 25 %ige Suspension bei pH-Werten nahe dem Neutralpunkt zeigt gute Gelbildung.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Gewinnung von Protein für die menschliche Ernährung aus Hefe durch mechanischen Aufschluß, wobei während oder gleich nach dem mechanischen Aufschluß die Lipide durch eine wäßrig-alkoholische Lösung und die Nucleinsäuren durch alkalische Hydrolyse entfernt werden, dadurch gekennzeichnet, daß die alkalische Proteinlösung mit entrahmter Frischmilch versetzt und beide Proteine als Kopräzipitat gefällt werden.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß entrahmte Frischmilch in solcher Menge zugesetzt wird, daß das Kopräzipitat 10 bis 50 % Kasein enthält.
3. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß vor dem Zusetzen der Milch der pH-Wert der Proteinatlösung auf 6,5 bis 8,5 eingestellt wird.
4. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Suspension nach der Ausfällung des Kopräzipitates 20 bis 40 Minuten bei 30 bis 60 °C behandelt wird.
5. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die nach dem Hefezellaufschluß abgetrennte wäßrige Phase vor der Fällung mit entrahmter Frischmilch mit der Proteinatlösung vereinigt wird.