

Abschlussbericht zum Projekt:

„Umweltgerechte Lebensmittelverarbeitung durch ressourcenschonende rückstandsfreie Nebenproduktverwertung –

Aufbau eines Kompetenzzentrums für Technologieentwicklung und -transfer im Gebiet Kaliningrad, Russische Föderation“

DBU-Aktenzeichen Az.: 33579/01-35

Bewilligungsschreiben vom 26.02.2017

Laufzeit: 26.02.2017-25.02.2019

ANiMOX, (Dr. Axel Höhling, Thomas Grimm)

BIOTECH, (Vladimir Volkov)

KSTU, (Prof. Olga Mezenova)

Kaliningrad/Berlin, Mai 2019

gefördert durch



Deutsche
Bundesstiftung Umwelt

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	5
Kurzfassung des Berichtes	7
1 Einführung und Motivation	8
2 Projektablauf (Methodik, Vorgehensweise)	9
3 Projektergebnisse	11
3.1 Erfassung von Rohwarenzusammensetzung und -qualität der Nebenprodukte im Raum Kaliningrad; Aufbau einer Datenbank; Unterstützung beim Aufbau von Transport (Kühlkette), Homogenisierung, Analytik der Rohwaren (AP 1)	11
3.1.1 Rohwarenzusammensetzung	11
3.1.2 Dokumentation der Proben für das Kompetenzzentrum	12
3.2 Aufbau des Kompetenzzentrums und Analysenlabors (AP 2)	12
3.3 Protease-Screening für die Versuche (AP 3)	17
3.3.1 Screening, Detektion von mikrobiellen Protease-Bildnern in den Reststoffen und Nebenprodukten durch Plattentest-Screening	17
3.3.2 Screening, Detektion von spezifischen Proteasen aus Fischdarmproteasen, Peptidasen aus dem Magen/Pankreas	20
3.4 Untersuchungen zum Proteinaufschluss und Transfer von Schritten ins Kompetenzzentrum (AP 4)	22
3.5 Entwicklung einer Materialvor- und Nachreinigung zur Reduzierung von Geruchs-, Geschmacks- und Farbkomponenten (AP 5)	27
3.5.1 Nutzung von Nachreinigung und Prozessanpassung	27
3.5.2 Nutzung der Möglichkeiten des Testlabors und der KSTU zur Entwicklung einer Materialvor- und -nachreinigung zur Reduzierung von Geruchs-, Geschmacks- und Farbkomponenten	30
3.6 Aufbau von Qualitätstest der Protein- Öl- und Mineralikprodukte nach der Aufschlussphase im Testlabor (AP 6)	32
3.7 Entwicklungen und Untersuchungen zur Proteingewinnung aus verschiedenen Rohwaren (AP 7)	35

3.7.1	Variationen des Proteinaufschlusses entsprechend der Ergebnisse des Qualitätstests	35
3.7.2	Nutzung der im Kompetenzzentrum etablierten Techniken zur Umsetzung der Entwicklung des Proteinaufschlusses im Testlabor.....	38
3.8	Entwicklung und Transfer der Techniken und Berechnungsmodelle zur Untersuchung der Ausbeuten und Masseströme (AP 8)	41
3.8.1	Referenzversuche bei ANiMOX.....	41
3.8.2	Transfer der Techniken und Berechnungsmodelle zur Untersuchung der Proteinausbeute, Reproduzierbarkeit und Produktstabilität in das Kompetenzzentrum Kaliningrad.....	45
3.9	Nutzung der Techniken zur Entwicklung von Protein-, Öl- und Mineralik- Mustern für die Testmaterialien. Einbindung der Praxispartner beim Aufbau des Anlagenkonzeptes (AP 9).....	47
3.10	Öffentlichkeitsarbeit, Veröffentlichungen, Vorträge.....	54
3.11	Fazit und Ausblick	57
4	Literatur.....	59
5	Anhang	62

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung des zum Proteasebildner-Screenings eingesetzten Skim-Milk (SM) Agars.....	17
Tabelle 2: Proteinproben aus geräucherten Sprossenresten.....	29
Tabelle 3: Organoleptische Eigenschaften	32
Tabelle 4: Physikalisch-chemische Eigenschaften.....	32
Tabelle 5: Organoleptische Eigenschaften	33
Tabelle 6: Physikalisch-chemische Eigenschaften.....	33
Tabelle 7: Analysenvergleich homogenisierte Sprossenköpfe	34
Tabelle 8: Analysenergebnisse des Ausgangsmaterials und der Phasen aus der thermischen Hydrolyse von geräucherten Sprossenköpfen bei 130 °C, 60 min. Werte in Klammern sind TS-bezogen.	35
Tabelle 9: Analysenergebnisse des Ausgangsmaterials und der Phasen aus der Vorwäsche und thermischen Hydrolyse von geräucherten Sprossenköpfen bei 130 °C, 60 min. Werte in Klammern sind TS-bezogen.....	37
Tabelle 10: Analysenergebnisse des Ausgangsmaterials und der Phasen aus der enzymatisch-thermischen Hydrolyse von geräucherten Sprossenköpfen bei 130 °C, 60 min. Werte in Klammern sind TS-bezogen.....	38
Tabelle 11: Die Abhängigkeit der Trockenstoffausbeute in den Hydrolysaten der Köpfe von Makrelen, Sardinen und Sardinellen in Abhängigkeit von der Hydrolysemethode und der Temperatur der Thermohydrolyse (Gew .-% der Rohstoffe).....	39
Tabelle 12: Beispiele von Proteinhydrolysaten und protein-mineralischen Produkten aus Fischnebenprodukten aus enzymatischen und thermischen Hydrolysen	40
Tabelle 13: Beispiele von Lebensmittelprodukten mit Einsatz von Hydrolyseprodukten (Proteinhydrolysat, Fett und protein-mineralische Produkte).....	48
Tabelle 14: Media Beiträge Russland.....	55

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vergleich von Protein- und Fettausbeuten bei unterschiedlichen Reaktortypen (ungerührt und gerührt) und Temperaturen von 121 °C und 140 °C.	14
Abbildung 2: Einweihung des Kompetenzzentrums mit Vortrag Generalkonsul (oben), Eröffnung Labor durch Frau Prof. Mezenova und Dr. Höhling (Mitte) und Erklärung des Labors durch Frau Prof. Mezenova (unten)	15
Abbildung 3: Ergebnisse des Positivtests mit verschiedenen Bacillus-Stämmen auf SM-Agar; links: <i>Bacillus pabuli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> DSM 1970.....	18
Abbildung 4: Isolierung von Proteasebildnern aus Fisch, Rind und Schweinematerial, die Kolonien mit den größten Höfen wurden zur Überimpfung auf Reinkulturen ausgewählt.	18
Abbildung 5: Isolate von Proteasebildnern in Reinkultur auf SM-Agarplatten.....	19
Abbildung 6: Einordnung der extrazellulären Proteaseaktivität von unterschiedlichen isolierten Stämmen auf SM-Agar; links: geringe extrazelluläre Proteasebildung, rechts: hohe extrazelluläre Proteasebildung.	20
Abbildung 7: Extrahierter Proteinanteil von Hydrolyseansätzen mit Proteasen und Geflügelrohware.....	22
Abbildung 8: Variation der Enzymmenge und der Einwirkzeit in der enzymatisch-thermischen Hydrolyse (60 °C und 130 °C / 1h).	23
Abbildung 9: Variation der TDH Temperatur bei enzymatisch-thermischer Hydrolyse von Schlachtnebenprodukten (Schwein).	24
Abbildung 10: Besuch der KSTU / Biotech Mitarbeiter bei ANiMOX, Schulung im Themengebiet Proteinextraktion.	25
Abbildung 11: Entfärbung und TS-Verlust mit verschiedenen Adsorbentien bei Proteinhydrolysat.....	27
Abbildung 12: Sprossenköpfe als Ausgangsmaterial.	28
Abbildung 13: Zerkleinerung der Sprossenköpfe im Fleischwolf (links), homogenisiertes Material (rechts).	29
Abbildung 14: Bewertung des bitteren Geschmacksanteils von Proteinhydrolysaten in Anhängigkeit von der Protease Wirkung (1-4 abnehmende Enzymkonzentration von 0,1-0 % Protease) in Kombination mit der Thermo-Druck-Hydrolyse	30
Abbildung 15: Getrennte Phasen nach der thermischen Hydrolyse und Zentrifugation.	36

Abbildung 16: Vorwäsche / Vorentfettung der zerkleinerten Sprottenköpfe. Sprottenköpfe mit Wasser versetzt (links); Zentrifugierte Wäsche mit Fettphase (Mitte Oben) und wässrige Phase und Fettphase (rechts Unten).	36
Abbildung 17: Ansatz der enzymatischen Vorbehandlung im temperierten Schüttler.	37
Abbildung 18: Bilanz Sprottenköpfe thermische Hydrolyse	41
Abbildung 19: Bilanz Sprottenhydrolyse mit Vorwäsche	42
Abbildung 20: Bilanz Sprottenhydrolyse enzymatisch-thermisch.....	43
Abbildung 21: Bilanz - Sprottenköpfe -Thermische Hydrolyse, 130 °C, 1 h bei ANiMOX ...	45
Abbildung 22: Bilanz - Sprottenköpfe -Thermische Hydrolyse, 130 °C, 1 h im Kompetenzzentrum.....	46
Abbildung 23: Lebensmittelmuster mit Hydrolyseprodukten aus Sprotten der Fischfabrik Sa Rodinu.....	49
Abbildung 24: Arbeitstreffen Biotech/KSTU mit Fischfabrik Sa Rodinu	50
Abbildung 25: Projektteam und Vorsitzender der Fischfabrik Sa Rodinu - Sieg beim Projektwettbewerb.....	50
Abbildung 26: Anlagenkonzept	51
Abbildung 27: Presswasser aus der Fischmehlproduktion (links) und Fischproteinhydrolysat aus Presswasser aus der Fischmehlproduktion (rechts).....	52

Kurzfassung des Berichtes

Die Projektpartner ANiMOX GmbH Berlin, DE, Biotech OOO und KSTU Kaliningrad, RUS haben gemeinsam das Projekt einer umweltgerechten Lebensmittelverarbeitung durch ressourcenschonende und rückstandsfreie Verwertung tierischer Nebenprodukte aus der Lebensmittelindustrie und den Aufbau eines Kompetenzzentrums zur Verwertung tierischer Abfälle im Großraum Kaliningrad realisiert. Dabei erfolgten die Entwicklungsarbeiten mit tierischen Lebensmittel-Nebenprodukten und der Aufbau des Kompetenzzentrums parallel. Die notwendige Ausstattung von Laboren und Beratungsraum in geeigneten, von der KSTU bereitgestellten, Räumen wurden gemeinsam geplant und von Biotech in Kaliningrad, Russland und ANiMOX beschafft. Im November 2017 konnte das Kompetenzzentrum in Anwesenheit des deutschen Generalkonsuls in Kaliningrad in Betrieb genommen werden.

Durch umfangreiche Vorversuche in den Laboren der ANiMOX GmbH wurden unterschiedliche Einflussfaktoren für die Gewinnung von Wertstoffen aus den tierischen Nebenprodukten untersucht. Der Firma Biotech ist es mit Hilfe der KSTU gelungen, Rohwaren aus der im Kaliningrader Gebiet befindlichen Lebensmittelindustrie zu beschaffen. Für Probeneingang, Lagerung und Zerkleinerung wurden die Prozessbeschreibungen von ANiMOX für die Abläufe bei Biotech adaptiert und relevante Analysen und Qualitätsparameter festgelegt. Um ihr Wertschöpfungspotential zu ermitteln, wurden die Rohwaren auf ihre Zusammensetzung hin untersucht und katalogisiert. Auf dieser Grundlage konnten positive Ergebnisse zur Herstellung von Produkten aus den Materialien erreicht werden. So wurden auch organoleptischen Produkteigenschaften des Proteinhydrolysates wie Geruch, Geschmack und Färbung verbessert. Versuche mit den Produkten konnten im Lebensmittelbereich der KSTU bis hin zu ihrer Einmischung in Snacks oder Suppen waren erfolgreich getestet werden.

Mit der Errichtung und Inbetriebnahme des Kompetenzzentrums, der Übertragung der Laborabläufe von ANiMOX, dem Beginn der Produktgewinnung aus tierischen Nebenprodukten der Kaliningrader Lebensmittelindustrie, der Herstellung erster industrieller Mustererzeugnisse aus Protein gemeinsam mit der Fischfabrik Sa Rodinu, der Akquirierung von drei ersten Projektpartnern für die Technologieentwicklung (Fischfabrik Sa Rodinu, Kaliningrad, RUS; Fischmehlfabrik Bioindustrie, Kemerowo, RUS; Baltic Biotech, Riga, Lettland), einer Patentanmeldung sowie der Entwicklung eines Konzeptes für eine Fischproteinanlage ist das Projekt erfolgreich bearbeitet worden. Die Ergebnisse bieten im nächsten Schritt eine gute Grundlage für die Verbesserung der ökologischen Situation in der Region und ihrer Kommerzialisierung.

1 Einführung und Motivation

Für die Firma ANiMOX liegt der Schwerpunkt im Entwicklungsvorhaben beim Aufbau einer umweltgerechten Lebensmittelverarbeitung durch ressourcenschonende rückstandsfreie Nebenproduktverwertung mit dem Focus auf die lebensmittelverarbeitende Industrie der Fischverarbeitung und Schweine-/Geflügelverarbeitung im Raum Kaliningrad. In Kooperation mit den Partnern Biotech und KSTU sollen die Entwicklungen im Labor auf betriebliche Anwendungen übertragen und implementiert werden.

Zum Erreichen dieses Ziels und zur einfachen und unkomplizierten Untersuchung der verfügbaren Rohwaren im Raum Kalinigrad und auch aus anderen russischen Regionen, soll ein Aufbau eines Kompetenzzentrums Kaliningrad erfolgen. In diesem Kompetenzzentrum sollen Arbeitstechniken und Herstellungsabläufe ermöglicht werden, wie sie in den Laboren der Firma ANiMOX durchgeführt werden.

Das Hauptziel des Projektes für Biotech und die KSTU war die Schaffung des Kompetenzzentrums für nachhaltige Proteinnutzung (Analytical Laboratory) sowie Entwicklung, Verbesserung und Umsetzung von innovativen abfallfreien Verfahren zur Herstellung von Proteinen, Fetten und Mineralien aus sekundären Rohstoffen tierischer und pflanzlicher Ursprung für Lebensmittel, Futtermittel, landwirtschaftliche Ziele. Kompetenzzentrum entwickelt Lösungen zur Verwertung von organischen Abfällen aus Lebensmittelindustrie und Landwirtschaft in Produkte mit einem hohen Mehrwert, was für die Ökonomie und Ökologie des Kaliningrader Gebiets und anderer russischen Regionen wichtig ist.

Zum Erreichen dieses Ziels wird Materielle Basis, Personal sowie Projektpartnernetzwerk systematisch in Kaliningrad und Russland ausgebaut. Es werden neue zuverlässige Komponentenslieferanten fürs Labor sowie künftige Pilotanlage gesucht und akquiriert. Neue proteinhaltige Rohstoffquellen (z.B. Sonnenblumenschrot, Lupine, Barde usw.) werden untersucht. Neue funktionelle Lebensmittel Produkte mit Einsatz von proteinhaltigen Fertigprodukten werden getestet.

2 Projektablauf (Methodik, Vorgehensweise)

Die Firmen ANiMOX, Biotech und die KSTU arbeiteten im Projektablauf systematisch nach den geplanten Arbeitspaketen. Diese wurden in den regelmäßigen Treffen in Berlin und Kaliningrad untersetzt, präzisiert und in konkrete Arbeiten geplant. In beiden Projektjahren fanden insgesamt neun Treffen statt, zum Projektstart und zur Absprache der Arbeiten 2017 in Berlin, dann im April und Juni 2017 in Kaliningrad, ein Treffen mit dem Rektor 2017 in Berlin und dann wieder im November 2017 zur Eröffnung des Kompetenzzentrums in Kaliningrad. Im Dezember 2017 wurde bei dem Treffen in Berlin viele praktische Arbeiten durchgeführt, die in das Entwicklungslabor im Kompetenzzentrum übertragen werden sollen. Das nächste Treffen fand im April 2018 zu technischen Versuchen in Kaliningrad im Labor statt, um den vollständigen Geräteablauf zu testen und Versuchsreihen durchzuführen. Im September 2018 fand ein weiteres Treffen mit den ortsansässigen Firmen und zur Bewertung der Versuchsmuster statt. Zum Abschluss fand zur Bewertung der Ergebnisse und zur Diskussion der nächsten Schritte ein Treffen in Berlin im Dezember 2018 statt. Zusätzlich fanden alle zwei Wochen Telefonkonferenzen zwischen den beteiligten Partnern statt um die Ergebnisse zu diskutieren, die per Mail ausgetauscht wurden.

Bei Besuchen in Kaliningrad fanden parallel dazu regelmäßige Treffen mit Firmen und Verbänden aus dem Raum Kaliningrad und Russland statt, um so viel wie möglich praktische Themen, schon frühzeitig in das Projekt einbinden zu können. Schwerpunkt waren dabei Firmen mit großen Problemen bei der Abfallentsorgung und -verwertung. Dadurch wird ein hoher Nutzen für die Umwelt im Raum Kaliningrad erreicht und gleichzeitig Produkte für die Nutzung der Reststoffe entwickelt und hergestellt. Diese umfangreichen Kontakte wurden im zweiten Projektjahr ausgebaut und Schritt für Schritt in praktische Umsetzungen überführt.

Ein Monitoring der Verarbeitungsbetriebe des Kaliningrader Gebiets (Fisch- und Fleischverarbeitung, Brauerei, Verarbeitung von Sojabohnen, Alkoholherstellung usw.) erfolgte durch Besuche in Industriebetrieben, Ausstellungen, wissenschaftlichen Konferenzen mit Fragebögen von Führungskräften und Spezialisten. Chemische Zusammensetzung und Qualität der Nebenproduktmuster wurden nach russischen Standards GOST 7631 und GOST 7636 (organoleptische Bewertung, Wassergehalt, Fett, Mineralstoffe, Proteine, Aminstickstoff) bestimmt. Es wurde eine Datenbank über Nebenprodukte aus Lebensmittelindustrie im Kaliningrader Gebiet (Liste und Anzahl, Probleme und Aussichten der Nutzung) geschaffen. Ein Kompetenzzentrum in Kaliningrad mit Versuchs- und Analytiklabor wurde geschaffen.

Die ersten 25 hydrolytischen Versuche mit Kaliningrader Nebenprodukten aus Lebensmittelindustrie wurden durchgeführt und teilweise analysiert. Ein aktiver Erfahrungsaustausch zwischen ANiMOX und Firma Biotech sowie KSTU findet statt. Alle Projektpartner haben erfolgreich sämtliche Arbeitspakete für das Projekt realisiert und eine gute Grundlage für nachhaltige Projektentwicklung gelegt.

3 Projektergebnisse

3.1 Erfassung von Rohwarenzusammensetzung und -qualität der Nebenprodukte im Raum Kaliningrad; Aufbau einer Datenbank; Unterstützung beim Aufbau von Transport (Kühlkette), Homogenisierung, Analytik der Rohwaren (AP 1)

3.1.1 Rohwarenzusammensetzung

Die statistischen Daten über Fischabfälle in Russland zeigen eine Gesamtmenge zwischen 900.000 und 1.200.000 Tonnen pro Jahr. Die Ergebnisse der Umfrage von mehr als 30 Fischereiunternehmen bei der 9. Internationalen Fachkonferenz „Produktion von Fischprodukten: Probleme, neue Technologien, Qualität“ (Swetlogorsk, Russland, 5. – 8. September 2017), auf der Internationalen Messe World Food 2017 (Moskau, Russland, 11.-13. September 2017) sowie auf dem Internationalen Fischereiforum (14.-15. September 2017, LENEXPO, St. Petersburg, Russland), wie z.B. "Russian Fisheries Company" (13 große Schiffe), GC "FOR" (14 Schiffe), SMT - Sigma Marine Technology (8 Schiffe); "Russische Fischfabrik" (15 Schiffe) haben gezeigt, dass nur einige Unternehmen ihre Fischabfälle verwerten und minderwertiges Fischmehl daraus herstellen. Die wichtigsten Arten von Fischabfällen sind Seelachsköpfe, Lachsköpfe und Gräten, Fischinnereien. Die Hauptgründe für die Nichtverwertung von Fischabfällen sind der Mangel oder das Fehlen von Gefrierkapazitäten, die Schwierigkeit der Verarbeitung der Vorpressbrühe, das Problem der Gewährleistung einer stabilen Qualität des Fischmehls aufgrund des erhöhten Fettgehalts des Abfalls und der erhöhte Gehalt an Mineralien in den Gräten und Köpfen sowie der schnelle Verderb der Innereien und deren schlechtes Einfrieren. Die Fischabfälle werden oft über Bord geworfen, verbrannt oder in den Boden vergraben, was der Umwelt schadet. Manche große Fischunternehmen wie z.B. Santa Bremor (Weissrussland) verwerten ihre Fischabfälle vollständig: Köpfe für Fischsuppe, fein zerkleinerte Gräten werden in Surimi verwendet, weitere Fischabfälle werden in Fischmehlproduktion verwendet. 80% der Fischunternehmen haben Probleme mit Abfall und geben sie kostenlos oder für 2-10 Rubel / kg (3-10 Eurocent/kg) ab. Alle Unternehmen bekundeten ihr Interesse an der weitgehenden Verarbeitung von Nebenprodukten zur Vermeidung von Abfällen und dem damit möglichen Erzielen von zusätzlichen Einnahmen.

Das Problem der Verschwendung der Fischabfälle ist besonders auf der Halbinsel Kamtschatka in Russland akut. 60-70% des Fischfangs stammt aus Kamtschatka: Seelachs, Hering, Stint, Wildlachs (rosa Lachs, Kunja, Coho Lachs, Rotlachs), Königskrabbe und viele andere Fisch-

und Meeresfrüchtearten (Trepang, Cucumaria, Braunalgen). Problembehandlung von Lachsabfällen liegt am hohen Fettgehalt und bei Weißfischen am erhöhten Aschegehalt. 11 Unternehmen des Kaliningrader Gebiets wurden näher untersucht. Die Hauptprobleme sind die Ineffizienz der Verwertung von Fischschuppen, gesalzene und geräucherte Abfällen (Sprottenköpfe, Ostseeheringe). LLC "Itar" und JSC "Soya" verarbeiten Barde gar nicht. Fleischverarbeitende Betriebe zahlen für das Recycling ab 3,5 Rubel/kg. Wie die weitere Verwertung durchgeführt wird, ist nicht ganz klar. Manche Großunternehmen verbrennen die Abfälle mit Kosten von 7 Rubel/kg. Die Zusammensetzung der Fisch- und Fleischnebenprodukte ist im Anhang anhand von analysierten Proben dargestellt.

3.1.2 Dokumentation der Proben für das Kompetenzzentrum

Für den gesamten Umgang mit externen Proben und die Durchführung eines qualitativ abgesicherten Laborbetriebes wurden Grundlagen eines Qualitätsmanagement-orientierten Dokumentations- und Lenkungssystems auf das Labor des Kompetenzzentrums übertragen. Dazu zählen insbesondere Maßnahmen zur lückenlosen Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit von Proben und Versuchen. Es wurde eine Auswahl von Vorlagen erstellt, die beispielsweise eine eindeutige Nummerierung und Erfassung von eingegangenen Rohwareproben und ausgegangenen Musterproben erlauben. Ebenso wurden Vorlagen zur Erfassung einzelner Thermo-Druck-Hydrolysen mit Versuchsdaten und Temperaturverläufen bereitgestellt. Eine Vorlage zur Nummerierung von Versuchen und zur Benennung von Proben inklusive einer Arbeitsanweisung zur Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit ermöglichen die lückenlose Dokumentation der durchgeführten Versuche und die Zuordnung von hergestellten Musterproben zu Versuchsläufen und dem verwendeten Ausgangsmaterial. Zur Analytik und Homogenisierung / Mischung der Rohwaren wurden ebenfalls Arbeitsanweisungen für analytische Methoden gemeinsam erarbeitet und erstellt. Ebenso wurden die nötigen Kühlkapazitäten geplant, besprochen und eine Arbeitsanweisung zur Probenlagerung / Probenerhalt je nach Materialart erstellt und für das Kompetenzzentrum implementiert. Alle wichtigen Unterlagen wurden in einem Dokumentenordner und Dokumentenserver schriftlich und digital hinterlegt und wurden fortlaufen im Projekt ergänzt und erweitert.

3.2 Aufbau des Kompetenzzentrums und Analysenlabors (AP 2)

Der Beginn der Schaffung des Kompetenzzentrums mit Analytiklabor (Zentrum für nachhaltige Proteinnutzung) wurde ab dem Moment der Bewilligung der Förderung durch die DBU begonnen. Entsprechend der Verordnung des Rektors der KSTU vom 26.05.2017 und Beschluss des

Akademischen Rates der KSTU vom 29. Juni 2017 wurde das Kompetenzzentrum gegründet. Das Zentrum wurde am Lehrstuhl für Lebensmittel-Biotechnologie der KSTU in Auditorium Nr. 13, Professor Baranov, KSTU, H.43, Kaliningrad untergebracht. Die Gesamtfläche der Räumlichkeiten beträgt ca. 100 qm. Von Mai bis November 2017 wurden die Räumlichkeiten renoviert, Abluftsystem ausgebaut, Labormöbel konstruiert, hergestellt und eingebaut. Das Kompetenzzentrum verfügt über eine analytische Waage Ohaus PA-214C 210g/0,0001g; Laborwaagen Ohaus V11P3 (3kg/0,5g) (2 Stck.), Waage NVL 10000 (10kg/1g); Waagen ELECTRONIC SCALE (2 Stck.); Waagen SOEHNLE (2 Stck.); Ohaus MB23 (Feuchtegehaltsbestimmer); Trockenschrank IIC-80-02 (80L/200oC) (2 Stck.); Tiefkühlschrank Indesit SFR 167 NF; Kühlschrank BOSCH; Hochdrucklaborautoklav PT-5 mit Rührwerk und Temperierung (hochwertige Einzelfertigung bestellt); Gefriertrockner Martin Christ Alpha 1-2 LDplus, Fleischwolf Kenwood MG-700; Zentrifuge Megafuge 1.0R Unity Lab Services; Einkochautomat PC-EKA 1066 PROFI COOK mit Rührwerk für enzymatische Versuche; magn. Rührwerk VARIOMAG Elektronikruehrer MONO; Brutschrank TB-80-1; Rechner Asus; Projektor Viewconic PJD5155; Boiler x 50 L NTS Regent, Laborgeschirr usw.

Hinsichtlich der allgemeinen Laborausstattung erfolgten zahlreiche Abstimmungen über die notwendigen Geräte und deren Eigenschaften bezogen auf ein vielseitig arbeitsfähiges Kompetenzzentrum und Entwicklungslabor. Dies betraf beispielsweise Waagen, Zentrifugen, Pipetten, Schüttler, Brut- und Trockenschränke sowie praktikables Glas- und Einwegmaterial. Die zur mechanischen Homogenisierung zur Verfügung stehenden Möglichkeiten und die sich daraus ergebenden im Labor notwendigen technischen Ausstattungsgegenstände wie Fleischwolf, Hackklötze, Edeltahltische und die Anordnung von Spülen und Labortischen wurde gemeinsam geplant und erörtert. Die Erfahrung der ANiMOX GmbH bei der Proteinextraktion und der Bearbeitung von unterschiedlichen Nebenprodukten wurden auf diese Weise genutzt, um die Gegebenheiten und die Ausstattung im Versuchslabor in Kaliningrad von Anfang an optimal auf eine effektive Arbeit auf diesem Gebiet auszurüsten. Auch bei der räumlichen Auslegung der Labore wurde eng zusammengearbeitet, um eine effektive Bearbeitung von Versuchen zu ermöglichen.

In der Planungsphase des Labors war die Auswahl des Thermo-Druck-Reaktors sowie dessen Ausstattung ein primärer Parameter, was sowohl die Anschaffungskosten als auch die Funktionalität betraf. Da die druckfeste Ausrüstung eines Reaktors mit einem Rührelement aufwändig und kostenintensiv ist, musste der Einfluss einer aktiven Rührung auf die Ergebnisse der ther-

mischen Hydrolyseversuche überprüft werden. Zu diesem Zweck wurden bei ANiMOX mehrere thermische Hydrolysen mit Reststoffen der Lebensmittelindustrie (Schweineknochen) mit und ohne Rührung in zwei unterschiedlichen Druckkesseln durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

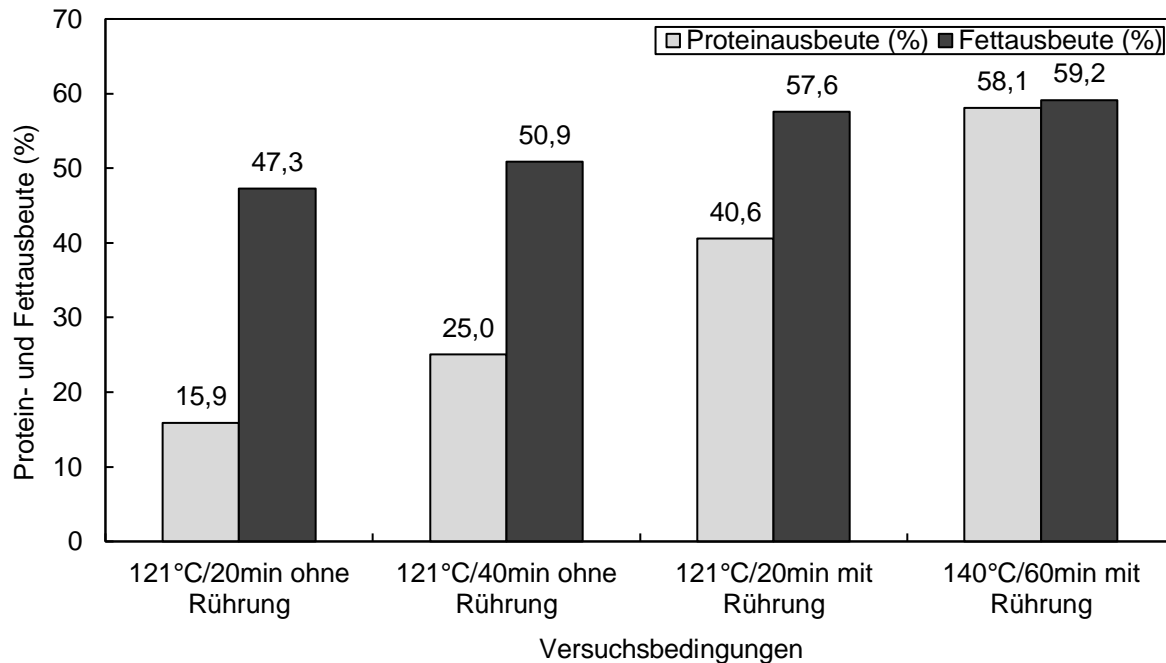


Abbildung 1: Vergleich von Protein- und Fettausbeuten bei unterschiedlichen Reaktortypen (ungerührt und gerührt) und Temperaturen von 121 °C und 140 °C.

Es ist deutlich erkennbar, dass sowohl Protein- als auch die Fettausbeute stark von einer vorhandenen Rührung profitierten (121 °C Versuche für 20 Minuten). Auch eine Verdopplung der Hydrolysezeit von 20 Minuten auf 40 Minuten erbrachte keine identischen Ergebnisse im Vergleich zum gerührten System. Ergebnisse aus einem Reaktor ohne Rührung wären demnach schlecht auf industrielle Verhältnisse (mit Rührung) zu skalieren, vermutlich aufgrund der schlechteren Wärmeverteilung. Für die Anschaffung im Kompetenzzentrum wurde daher ein Reaktor mit aktiver Rührung ausgewählt. In gemeinsamen Gesprächen wurden weitere Eigenschaften des Rührkessels wie Druckfestigkeit, Volumen, Verschlusseigenschaften und Ablassmöglichkeiten diskutiert und festgelegt, Angebote für mögliche Reaktoren wurden begutachtet und eingeschätzt.

Die offizielle Eröffnung des Zentrums fand am 9. November 2017 unter breiter Beteiligung von Partnern und der Öffentlichkeit statt. Es waren neben dem deutschen Generalkonsul für Kaliningrad, Dr. Banzhaf auch der Rektor der Universität Herr Volkogon und von der DBU Frau Domel und Frau Dr. Freyer-Wille anwesend (siehe Abbildung 2).



Abbildung 2: Einweihung des Kompetenzzentrums mit Vortrag Generalkonsul (oben), Eröffnung Labor durch Frau Prof. Mezenova und Dr. Höhling (Mitte) und Erklärung des Labors durch Frau Prof. Mezenova (unten)

Im Laufe des Projektes wurde weitere Ausrüstung ergänzt und für Versuche genutzt. Das Labor besteht aus 4 Abteilungen: Rohware (Kühlagerung, Waschen, Zerkleinerung), thermische Abteilung (Hydrothermolyse, Trocknung, Enzymbehandlung), analytische Abteilung (chemische Analyse von Qualitätsindikatoren), Seminarraum. Fotos sind im Anhang zu finden. Während der Arbeitstreffen haben die Biotech und KSTU Mitarbeiter die besten Methoden und Praktika von ANiMOX kennengelernt. Ein Erfahrungsaustausch findet weiterhin systematisch und regelmäßig statt.

Die Hauptprodukte des Zentrums sind **Proteinhydrolysate** mit regulierbaren Qualitätsparametern (Molekulargewicht, Aminosäurezusammensetzung, sensorische Eigenschaften) in flüssiger und getrockneter Form. Für die Herstellung von Lebensmittelhydrolysaten aus festen Fischabfällen (Schuppen, Gräten, Köpfe) werden Rohstoffe verwendet, die den Anforderungen speziell entwickelter technischer Spezifikationen TU 9283-004-00471544-2016 "Eingefrorene und gekühlte kollagenhaltige Fischrohware" entsprechen. Die Zielparameter für Proteinhydrolysate aus diesen Rohstoffen sind Proteingehalt von 80-90%, Fettgehalt unter 5% und Asche unter 5%. Lagerzeit beträgt bis zu 24 Monaten. Optische Charakteristika: feines Pulver oder dicke Flüssigkeit; Pulverfarbe - Sand mit hellbraunen Tönen; die Farbe der Flüssigkeit ist von hell bis dunkelbraun; Geruch und Geschmack - spezifisch, mit Schattierungen von getrocknetem Fisch, ohne fremde oder diskreditierende Gerüche und Aromen. Massenanteil der Feuchtigkeit - nicht mehr als 8% (Pulver) oder 50% (flüssig); Fett - nicht mehr als 5% der Trockensubstanzen (TS); Protein - nicht weniger als 80% TS. Der Indikator der gesamten mikrobiellen Kontamination darf nicht kritischen Wert von $1,0 \times 10^4$ Zellen/g überschreiten. Proteinhydrolysate enthalten sämtliche essentiellen Aminosäuren und werden als Lebensmittel sowie biologisch aktive Zusatzstoffe in den Technologien der funktionellen und spezialisierten (Sport, Allergien, ältere Menschen usw.) Ernährung empfohlen.

Ein Nebenprodukt ist **natürliches Fett**, das einen Fettanteil von 99 % enthält. Bei Fischöl sollte die Säurezahl unter 4 mg KOH/1 g Fett liegen, die Peroxidzahl nicht mehr als 10 mmol Aktivsauerstoff/1 kg Fett betragen, die gesättigten, ungesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäure sollen möglichst Verhältnissen (1: 1-3:0,5-2,3) einhalten.

Noch ein Nebenprodukt ist das **Protein-Mineral-Additiv** oder **Mineral-Protein-Additiv**, von Hydrolyseverfahren und Rohstoff abhängig. Das ist ein feines helles Pulver mit grauer oder brauner Farbe. Der Gehalt an Mineralstoffen ist mehr als 50% TS im Falle des Mineral-Protein-Additivs und weniger als 50 % im Falle des Protein-Mineral-Additivs. Die Feuchtigkeit liegt

unter 6%, Kalziumgehalt - nicht weniger als 10%, Phosphorgehalt - nicht weniger als 5%, hochmolekulargewichtige unlösliche Proteine - nicht mehr als 60% TS. Die Produkte können als biologisch aktive Zusatzstoffe - Quellen für Fettsäuren, Mineralstoffe und proteinhaltige Ballast- und Lebensmittelzusatzstoffe in den Rezepturen von Brot, Brötchen, Keksen und anderen Produkten verwendet werden.

3.3 *Protease-Screening für die Versuche (AP 3)*

3.3.1 Screening, Detektion von mikrobiellen Protease-Bildnern in den Reststoffen und Nebenprodukten durch Plattentest-Screening

Ziel der Arbeiten in diesem Arbeitspaket war es, in üblichen Nebenprodukten der Fleischproduktion die Gegenwart von Mikroorganismen nachzuweisen, die extrazellulär Proteasen bilden. Weiterhin sollten diese Keime isoliert und als Reinkultur angelegt sowie die Stärke der extrazellulären Proteasebildung eingeschätzt werden. Hochwirksame Proteasen stellen vielseitig einsetzbare und in großem Umfang zur Anwendung gebrachte Produkte dar, daher sind Stämme mit außerordentlich großer Proteaseaktivität industriell sehr interessant.

Zum Screening und zur Beurteilung der Proteasebildung wurde ein spezieller Agar mit hohem Anteil an Magermilchpulver eingesetzt. Das in der Magermilch enthaltene Casein (Milchprotein) trübt den Agar stark ein. Schütten Mikroorganismen auf der Agar-Oberfläche Proteasen aus, hydrolysieren diese das Casein, und der Agar wird transparent. Bei Mikroorganismenkolonien ohne Proteaseaktivität bleibt der Agar hingegen trübe, und erlaubt daher das selektive Überimpfen (Picken) von Kolonien zur Isolierung. Tabelle 1 zeigt die Zusammensetzung des Selektivagars.

Tabelle 1: Zusammensetzung des zum Proteasebildner-Screenings eingesetzten Skim-Milk (SM) Agars.

Komponente	Quelle (Best.-Nr.)	Konzentration (g/L)
Milchpulver	Carl Roth (T145.2)	28,0
Casein (pankreatisches Pepton)	Sifin	5,0
Hefeextrakt	Carl Roth (2363.2)	2,5
Glucose Monohydrat	Carl Roth (6780.2)	1,0
Agar-Agar, Kobe 1	Carl Roth (5210.3)	15,0

Um die Wirksamkeit und Funktionsfähigkeit des Agars zu prüfen wurden einige Agarplatten mit verschiedenen *Bacillus*-Keimen beimpft, und anschließend bei 30 °C für 24-48 Stunden bebrütet. Abbildung 3 zeigt Auszüge der Ergebnisse des Positivtests.



Abbildung 3: Ergebnisse des Positivtests mit verschiedenen *Bacillus*-Stämmen auf SM-Agar; links: *Bacillus pabuli*, *Bacillus subtilis* DSM 1970.

Der SM-Agar zeigte eine sehr gute Differenzierung der unterschiedlich hohen Proteaseaktivität der überimpften Stämme. *Bacillus pabuli* zeigte beispielsweise eine vergleichsweise geringe Proteasebildung, der Agar war nur in Teilbereichen leicht transparent. *Bacillus subtilis* DSM 1970 hingegen wies eine sehr starke Proteasebildung auf, hier lässt sich sehr gut die Hofbildung um die Kolonien erkennen. Je größer diese Höfe sind, desto höher ist die gebildete Menge an ausgeschütteter Protease.

Nach dem erfolgreichen Positivtest wurden nun Isolate aus Resten unterschiedlicher Herkunft (Fisch, Rind und Schwein) gewonnen. Dabei erfolgte eine Mischung von Reststoff mit steriler NaCl-Lösung (0,9 %), die Verdünnung der Lösung in einer Verdünnungsreihe und abschließend das Ausplattieren unterschiedlicher Verdünnungsstufen auf SM-Agar. Abbildung 4 zeigt Bilder der Ausplattierungen.

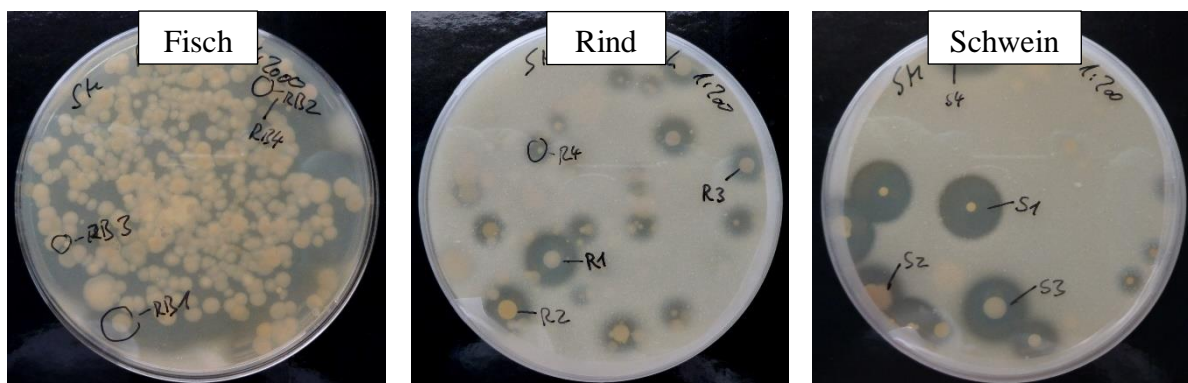


Abbildung 4: Isolierung von Proteasebildnern aus Fisch, Rind und Schweinmaterial, die Kolonien mit den größten Höfen wurden zur Überimpfung auf Reinkulturen ausgewählt.

Es ergaben sich bei allen gesammelten Proben positive Befunde hinsichtlich der Gegenwart von Proteasebildnern. Dies ist eindeutig auf die proteinreiche Matrix zurückzuführen, die als selektives Anreicherungsmedium fungiert. Bei den Fischresten wurde zum Picken von Kolonien die Ausplattierung der 1:2000 verdünnten Probe verwendet, bei Rind und Schwein die Platte der 1:200 Verdünnung. Von jeder Platte wurden möglichst unterschiedliche Kolonien mit möglichst großen aufgeklärten Höfen gepickt, und auf SM-Agar als Reinkulturausstrich überimpft, anschließend folgten weitere Überimpfungen um eine Reinkultur ohne Kontaminationen sicher zu stellen. Abbildung 5 zeigt Agarplatten mit Reinkulturen isolierter Proteasebildner auf SM-Agarplatten.

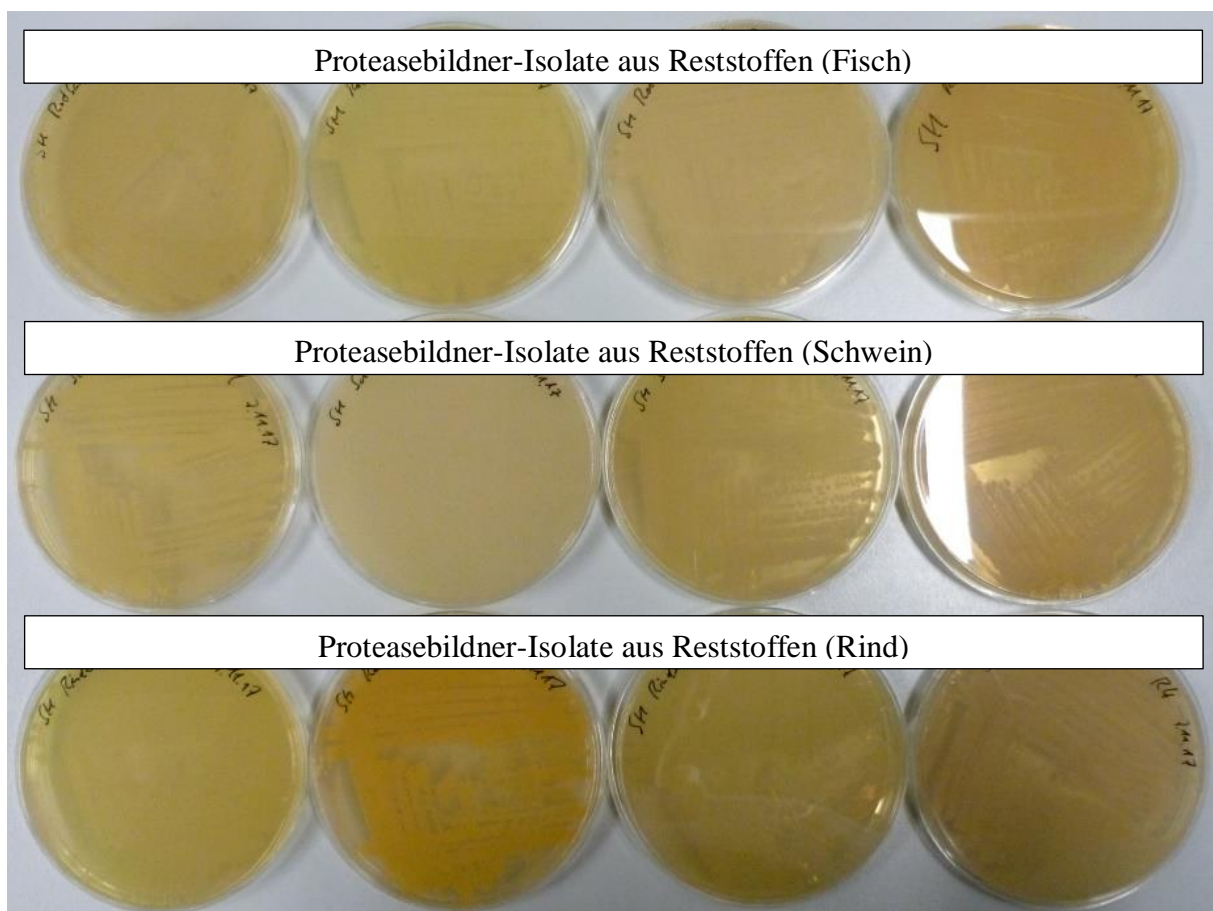


Abbildung 5: Isolate von Proteasebildnern in Reinkultur auf SM-Agarplatten.

Zur Beurteilung der ausgeschütteten Proteasemenge konnte die Größe der Höfe von Einzelkolonien herangezogen werden. Abbildung 6 zeigt Kolonien unterschiedlicher Isolate mit schwacher und starker Protease-Ausschüttung in den Agar.

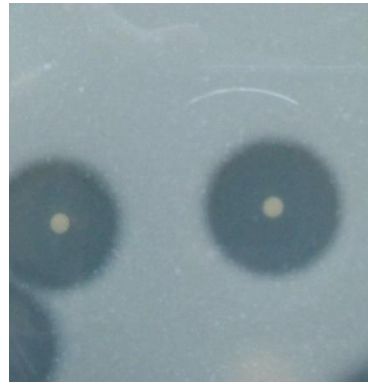
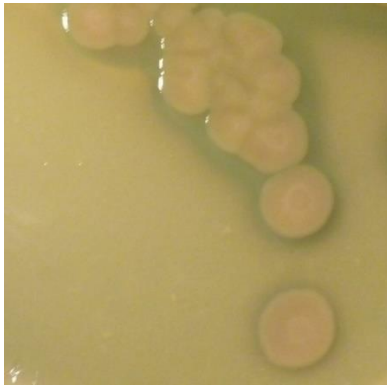


Abbildung 6: Einordnung der extrazellulären Proteaseaktivität von unterschiedlichen isolierten Stämmen auf SM-Agar; links: geringe extrazelluläre Proteasebildung, rechts: hohe extrazelluläre Proteasebildung.

Mit Hilfe dieser Methode konnten die zahlreichen isolierten Stämme in Reinkultur auf die extrazellulär gebildete Proteasemenge untersucht werden. Im Laufe der gesamten Arbeiten wurden insgesamt 11 Protease-aktive Stämme in Reinkultur angelegt, davon 4 aus Fischreststoffen, 3 aus Reststoffen aus Schwein und 4 aus Reststoffen vom Rind.

3.3.2 Screening, Detektion von spezifischen Proteasen aus Fischdarmproteasen, Peptidasen aus dem Magen/Pankreas

Das enzymatische Präparat „Kollagenase“ wird aus Hepatopankreas der Königskrabbe produziert (SAO „Bioprogress“, Schelkowo, Russland). Die Qualität des Präparats entspricht der technischen Spezifikationen TU 9154-032-11734126-10 «Kollagenase». Das ist ein Pulver mit Farben von hellgrau bis dunkelbraun. Das Präparat hat eine signifikante kollagenolytische Aktivität (bis 750 Einheiten/mg nach Mandl). Aktivität des enzymatischen Präparats im Versuch betrug 172 Einheiten/mg nach Mandl. Das enzymatische Präparat wurde bei der Hydrolyse der Fischabfälle (Schuppen, Gräten von Sardinella) getestet. Bei diesem Präparat wurde die höchste proteolytische Aktivität im Vergleich zu anderen Enzymen in Proteinhydrolysaten nach Gehalt des Aminstickstoffs (zeigt Aminosäuregehalt - Endprodukte der Hydrolyse) 804,6-892,7 mg Aminstickstoff/100 g festgestellt. Enzymatische Präparate wurden aus Fischinnereien des Baltischen Herings produziert. Aus 100 kg Baltischer Hering bekommt man 14,8 kg der Fischinnereien (Magen, Darm, Leber). Chemische Zusammensetzung der Fischinnereien verändert sich im Laufe des Jahres. Fettgehalt wächst von 1,74 % im Mai auf 9,1% im November, Proteingehalt ist relativ stabil (16,5-17,0%). Die Aktivität der proteolytischen Fischenzyme variiert in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand, vom Fischfanggebiet und von der biologischen Eigenschaft.

Die Aktivität ist am höchsten während der intensiven Ernährung der Fische (Mai-Juli). Das enzymatische Präparat wurde aus Fischinnereien des Baltischen Herings im März-April produziert, wenn die reproduktive Reifung der Fische beginnt. Die Aktivität des enzymatischen Präparats wurde anhand der Zunahme des Aminostickstoffs bei pH 1,8 (saure Proteasen), pH 7,0 (neutrale Proteasen) und pH 10,0 (alkalische Proteinase) im eigenen Muskelgewebe der Fische gemessen. Im enzymatischen Präparat sind gleichzeitig saure, neutrale und alkalische Proteasen solche wie Pepsin, Trypsin und Chymotrypsin vorhanden. Im enzymatischen Präparat ist der größte Anteil der Enzyme aus der alkalischen Gruppe, die höchste Aktivität bei pH 8,5 bis 10 zeigen. Die Herstellung des enzymatischen Präparates aus Fischinnereien erfolgt durch Extrahierung der Enzyme aus zerkleinertem Fischmaterial bei 40-50 °C im Wasser bei Rührung innerhalb von 3-5 Stunden. Zur Extrahierung von sauren Proteasen muss der Prozess bei pH unter 7,0 bei 40 °C innerhalb von 5 Stunden oder bei 50 °C innerhalb von 3 Stunden durchgeführt werden. Für neutrale (pH 7) und alkalische Proteasen (pH 9,0 -10,0) führt man die Extrahierung bei 50 °C innerhalb von 3 Stunden durch. Die Technologie der Herstellung des enzymatischen Präparats aus Fischinnereien des Baltischen Herings erfolgte folgendermaßen: Zerkleinerung, Extrahierung im Wasser mit Einsatz von 9% Natriumcarbonat (pH 8,5 ± 0,2) im Verhältnis 1:1, Temperatur 37- 40 °C, Verweilzeit 5 Stunden, Zentrifugierung 10 Min bei 2800 U/Min, Entfettung der liquiden Fraktion, Einsatz eines Konservierungsstoffs (10% Kochsalz). Ausbeute des enzymatischen Präparats (liquide Form) betrug 143% vom Gewicht der Fischinnereien. Enzymatische Aktivität nach Anson-Methode liegt im Bereich 2,2-2,5 AU-A/g. Das enzymatische Präparat („Baltika“) ist eine Flüssigkeit, Farbe von dunkel-grau bis braun, ein schwacher spezifischer Geruch, Proteingehalt von 40,0 - 50,0%, Gehalt von NaCl 10,0-11,0%, proteolytische Aktivität ist nicht kleiner als 2,2 AU-A/g. Die vorherrschenden Proteasen sind alkalisch.

3.4 Untersuchungen zum Proteinaufschluss und Transfer von Schritten ins Kompetenzzentrum (AP 4)

Es wurden umfangreiche Vorarbeiten zum Aufschluss von Reststoffen und der Extraktion von Protein und Fett durchgeführt. Dabei wurden zunächst Versuche zur enzymatischen (Vor-)Hydrolyse von Reststoffen angesetzt, die mit einer großen Anzahl von technisch relevanten und kommerziell erhältlichen Protease-Präparaten arbeiteten. Abbildung 7 zeigt eine breite Screening-Reihe zur rein enzymatischen Behandlung von Geflügelresten.

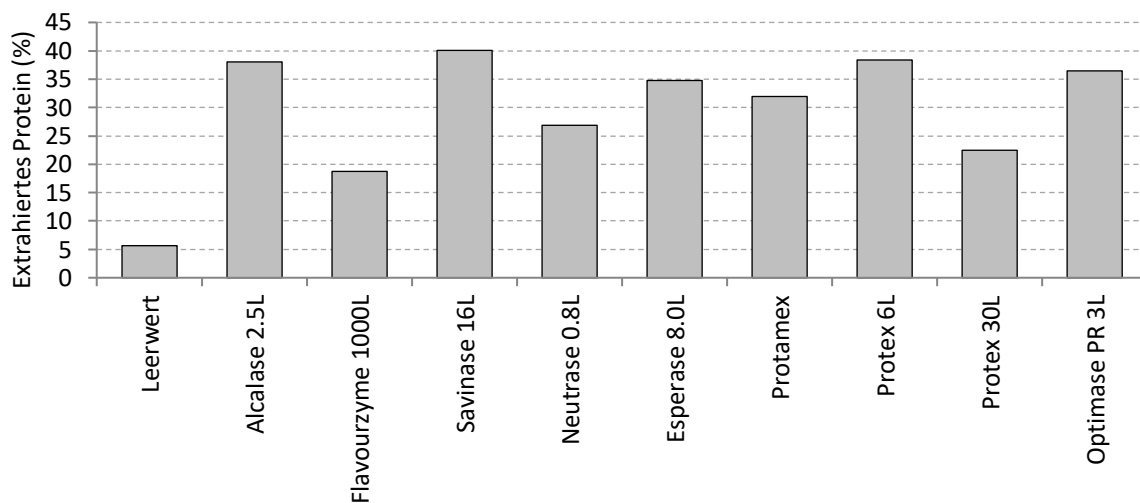


Abbildung 7: Extrahierter Proteinanteil von Hydrolyseansätzen mit Proteasen und Geflügelrohware.

Aus derartigen Versuchsreihen ließ sich ableiten, welche kommerziellen Enzyme für die Extraktion von Reststoffen die besten Ergebnisse erbringen. In diesem Fall eignen sich die Alcalase 2.5L und Savinase 16L (Novozymes) sowie Protex 6L und Optimase PR 3L (Genencor) am besten. Vorratsmengen von unterschiedlichen vielversprechenden Enzympräparaten (Muster der Hersteller) wurden dem Versuchslabor in Kaliningrad für eigene Optimierungsreihen zur Verfügung gestellt.

Neben rein enzymatischen Versuchen zur Extraktion von Reststoffen wurden auch enzymatisch-thermische Kombinationsversuche inklusive der Optimierung der anteiligen enzymatischen Hydrolyse durchgeführt, um für die enzymatische Vorbehandlung im Kaliningrader Labor Grundparameter zu optimieren und festzulegen. Abbildung 8 zeigt beispielhaft die Variation der Enzymkonzentration (links) und die Variation der Dauer der enzymatischen Vorbehandlung bei jeweils gleicher thermischer Hydrolyse im Anschluss.

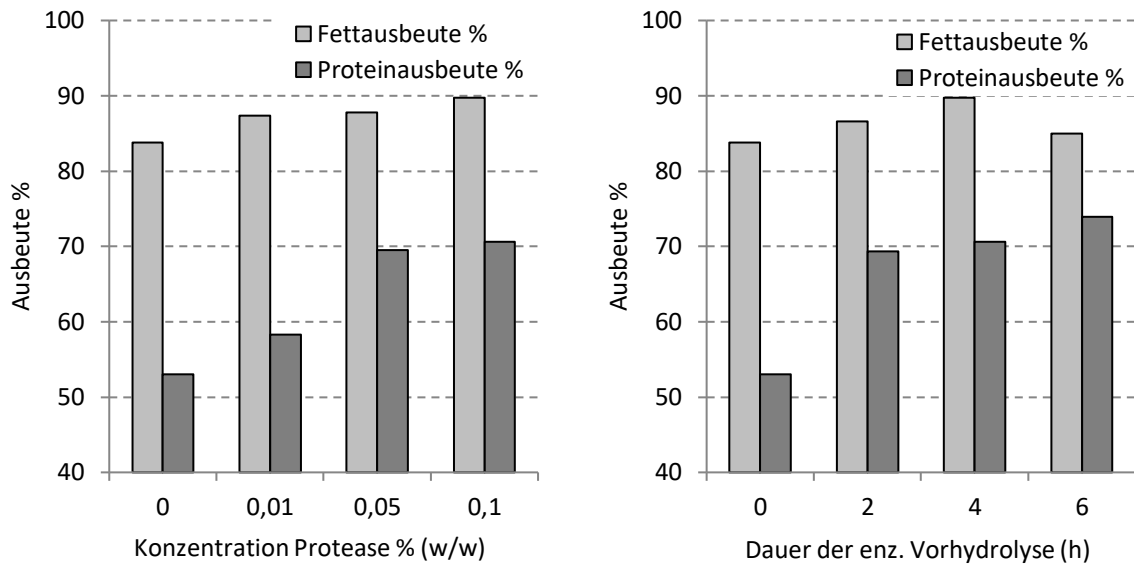


Abbildung 8: Variation der Enzymmenge und der Einwirkzeit in der enzymatisch-thermischen Hydrolyse (60 °C und 130 °C / 1h).

Es zeigte sich ein starker Einfluss von Proteasemenge und Einwirkzeit auf die Proteinausbeute, jedoch nur ein schwacher Einfluss auf die Fettausbeute der Gesamtversuche, die Optima lagen bei 0,05 % - 0,1 % Proteasekonzentration und einer enzymatischen Vorhydrolysedauer von mindestens 2 – 4 Stunden.

Auch die thermischen Hydrolyseparameter wurden untersucht, Abbildung 9 zeigt exemplarisch die Variation der Temperatur in der Thermo-Druck-Hydrolyse bei gleichbleibender Enzymatischer Vorbehandlung.

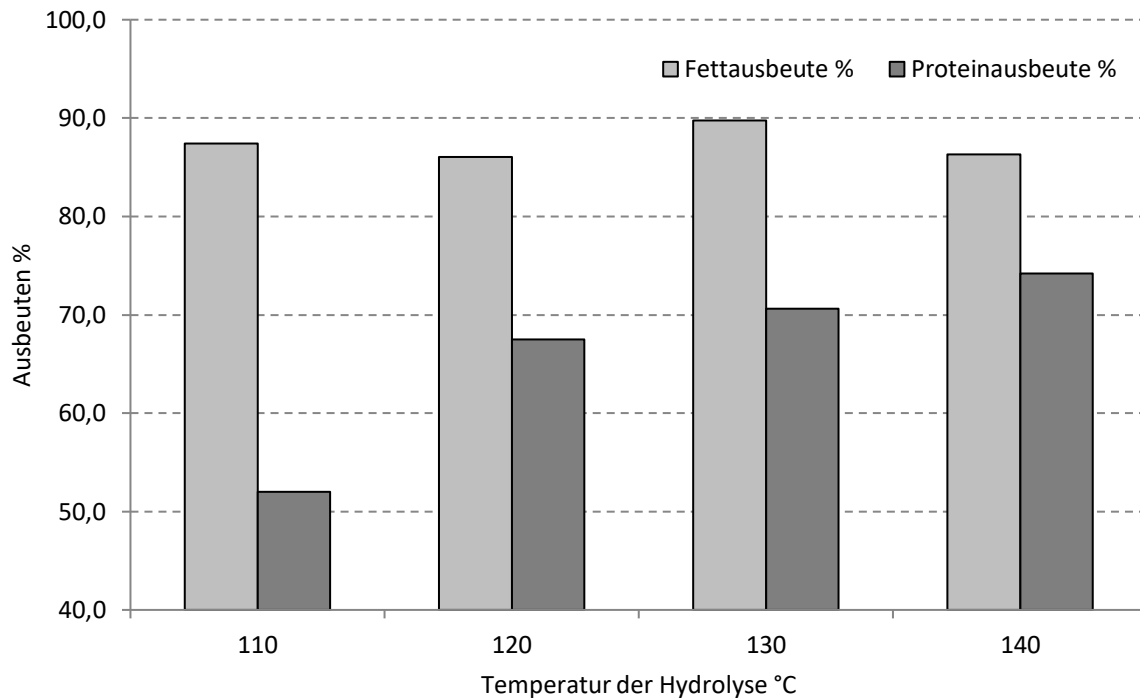


Abbildung 9: Variation der TDH Temperatur bei enzymatisch-thermischer Hydrolyse von Schlachtnebenprodukten (Schwein).

Es ergab sich ein deutlicher Einfluss der Hydrolysetemperatur auf die Proteinausbeute, jedoch nur ein geringer Einfluss auf die Fettausbeute. Dieser Einfluss musste bei der Auslegung des Thermo-Druck-Reaktors für das Testlabor berücksichtigt werden, da unbedingt unter praxisrelevanten Drücken gearbeitet werden muss, um gute Ausbeuten zu erzielen. Außerdem wurden derartige Ergebnisse als Startpunkt für eigene Extraktionsversuche im Kaliningrader Labor verwendet.

Schulungen im Labor der ANiMOX GmbH

Um die Anwendung der Erkenntnisse im praktischen Laboralltag zu erleichtern, wurden mehrfache Besuche des Kaliningrader Wissenschaftlerteams in Berlin organisiert. In einem dreitägigen Intensivkurs im Dezember 2017 wurden alle wichtigen Arbeitsschritte wie Probeneingang, Durchführung enzymatischer und thermischer Hydrolysen, Trennung der Fett-, Protein- und Sedimentphasen, Analytik und Bilanzierung im Labor gemeinsam durchgeführt. Dabei wurden eine thermische Hydrolyse mit Schweinereststoffen, eine thermische Hydrolyse mit Fischresten aus Kaliningrad sowie eine enzymatisch-thermische Kombinationsbehandlung mit Fischresten aus Kaliningrad durchgeführt. Die Vorführung der Arbeitsweisen und Methoden bei der ANiMOX GmbH stieß auf großes Interesse, wie die Bilder in Abbildung 10 zeigen.



Abbildung 10: Besuch der KSTU / Biotech Mitarbeiter bei ANiMOX, Schulung im Themengebiet Proteinextraktion.

Mit Hilfe der Ergebnisse der Voruntersuchungen zur enzymatischen und thermischen Hydrolyse, den Arbeitsanweisungen und der praktischen Unterweisungen in den Laboren der ANiMOX GmbH konnten grundlegende Arbeiten zur Proteinextraktion und Reststoffnutzung im Testlabor Kaliningrad schnell und effizient aufgenommen werden.

Im Kompetenzzentrum wurde seit der Einweihung verschiedene Versuche mit unterschiedlichen Fischabfällen (Köpfe, geräucherte Köpfe, Gräten, Schuppen, Seitenflossen) in unterschiedlichen Verfahren (enzymatische Hydrolyse, Autolyse, thermische Hydrolyse, kombinierte Hydrolyse, mit Einsatz eines Minzeextrakts) mit unterschiedlichen Enzymen Alcalsae 2.4 L, 2.5 L, Neutrase, Protamex, enzymatisches Präparat „Baltika“ durchgeführt. Der Hydrolysegrad wurde anhand der Akkumulierung des Aminostickstoffs mithilfe der Titrationsmethode gemessen. Die Hydrolyse wurde nach Zerkleinerung, Einsatz des Warmwassers 1:1, thermische Hydrolyse bei 115°C innerhalb von 3 Std (1,5 Std. Vorwärme auf 115 °C und 1,5 Std.

Verweilzeit bei 115 °C) durchgeführt. Die Versuchsergebnisse sind in Anlagen 2, 3 und 4 dargestellt.

Ergebnisse der Autolyse (Hydrolyse mithilfe eigener Enzyme) zeigen, dass in allen Proben autolytische Prozesse stattfinden, so steigt Aminstickstoff von 42,1 mg% (Rohware) auf 255,8 – 301,96 mg%. Die Autolyse wurde mit Einsatz eines Minzeextrakts etwas verlangsamt die Autolyse und Endwert des Aminstickstoffs betrug 255 mg% aber bei der Erhöhung der Minzekonzentration intensiviert sich der Autolyseprozess (Aminstickstoff steigt von 231 auf 404 mg%). Alcalase 2.5 L mit Konzentration 0,25% von Rohwarengewicht und Wasser beschleunigt den Prozess fast zweifach im Vergleich zu den Proben ohne Enzyme. Alcalase 2.5 L und Alcalase 2.4 L zeigen ähnliche Eigenschaften (Aminstickstoff in Hydrolysaten 528,6 und 518 mg%). Etwas schwächer ist Protamex (Aminstickstoff in Hydrolysaten 508,1 mg%). Thermische Hydrolyse erhöht Hydrolysegrad nach enzymatischer Behandlung in allen Proben. Alcalase zeigt höhere Werte als Protamex (Aminstickstoff mit Alcalase 2.5L 661,7 mg% und 605,1 mg % mit Protamex). Nur die thermische Hydrolyse (ohne enzymatische Behandlung) hat ungefähr gleichen Grad der Hydrolyse wie Autolyse (Aminstickstoff 235,6 mg% und 250,4 mg %) demonstriert. Die Ergebnisse bestätigen die Zweckmäßigkeit der kombinierten Hydrolyse (Fermentation mit Alkalase + Thermolyse). Bei der Hydrolyse der geräucherten Köpfe wird ein wesentlich niedrigerer Hydrolysegrad erreicht (Aminstickstoff in Rohware 62,1 mg%, Alcalase 2.4 L + thermische Hydrolyse 131 mg%). Hier ist die inhibierende Natur der Rauchkomponenten offensichtlich und ein wichtiger Einflussfaktor. Bei der Hydrolyse der Sardinenschuppen steigt der Hydrolysegrad von 64,8 mg% (Autolyse) auf 208,9 mg% (Alcalase 2.4 L + thermische Hydrolyse). Dies zeigt die feste Struktur der Schuppenproteine und Notwendigkeit der erhöhten Temperatur bei der thermischen Hydrolyse.

3.5 Entwicklung einer Materialvor- und Nachreinigung zur Reduzierung von Geruchs-, Geschmacks- und Farbkomponenten (AP 5)

3.5.1 Nutzung von Nachreinigung und Prozessanpassung

Die Qualität der Proteinhydrolysate hinsichtlich Geruchs, Geschmacks und Färbung hat starken Einfluss auf die Vermarktbarkeit, den maximalen Absatz und den erzielbaren Preis. Durch den Extraktionsprozess allein und die Optimierung seiner Parameter kann jedoch nicht immer eine optimale Qualität des Produktes erreicht werden. Daher ist ein Portfolio an Nachbehandlungsmöglichkeiten zur selektiven Verbesserung von bestimmten Eigenschaften der extrahierten Proteine von großem Wert. Weiterhin kann es durch die Behandlungsmethoden im Rahmen der Proteingewinnung zu geschmacklichen Veränderungen kommen. Enzymatische Behandlungen können zu einer Verschlechterung der geschmacklichen Eigenschaften führen. Auch hierfür ist eine Testung notwendig.

Zur Entwicklung solcher Methoden wurden im Arbeitspaket 5 Versuchsreihen zur Entfärbung und geschmacklichen Verbesserung von Proteinhydrolysaten durch eine Behandlung mit unterschiedlichen Materialien wie Aktivkohlen, Bentoniten und H₂O₂ durchgeführt. In Abbildung 11 ist eine Testreihe mit verschiedenen Materialien zur Entfärbung dargestellt.

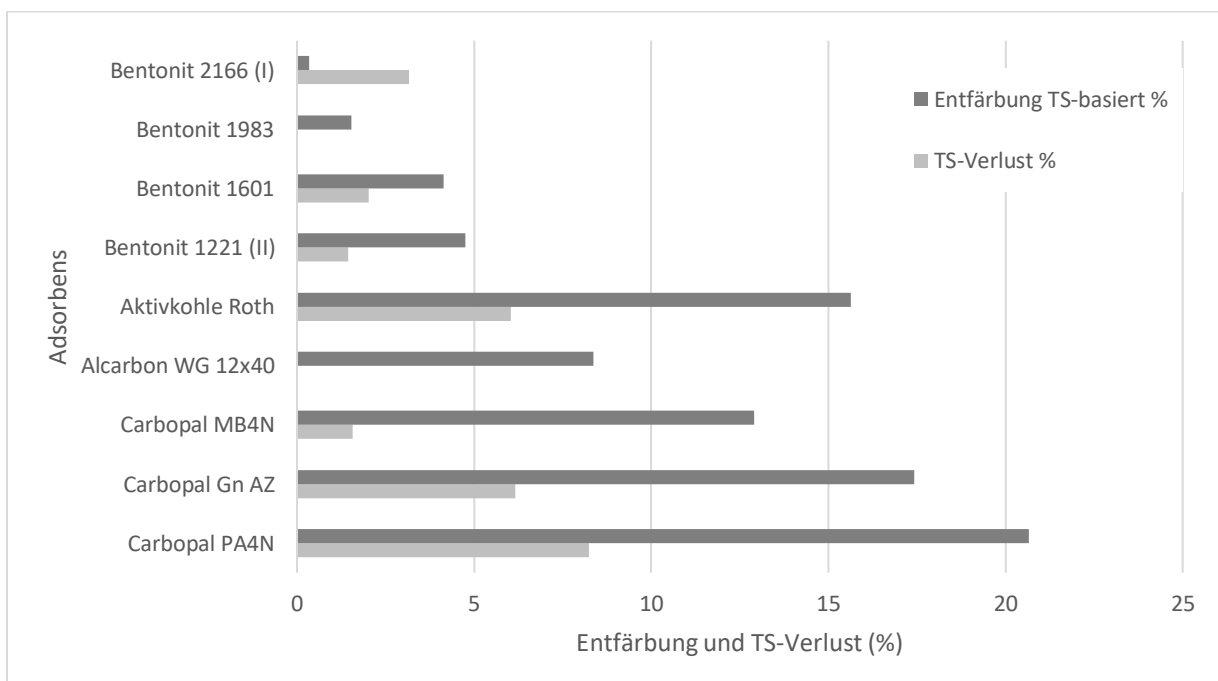


Abbildung 11: Entfärbung und TS-Verlust mit verschiedenen Adsorbentien bei Proteinhydrolysat

Durch den Einsatz der Adsorbentien konnte die Färbung und der Geschmack der Proteinlösungen deutlich verbessert werden. Einfluss auf die Wirkung haben dabei Konzentration des Entfärbungsmittels, Entfärbungstemperatur und Vor- und Nachreinigung. Wichtig war auch die Berücksichtigung des Masseverlustes, die Massebezogene Färbung bzw. der Geschmackseinfluss sollte immer abnehmen.

Die Entfärbung wurde photometrisch bei unterschiedlichen Wellenlängen im Vis-Bereich bestimmt. Dabei zeigten sich speziell bei Proteinpräparaten mit eher niedrigem Molekulargewicht gute Entfärbungsergebnisse ohne einen starken Proteinverlust. Auch die geschmackliche Bewertung zeigte in diesen Versuchen eine Verbesserung der Eigenschaften durch eine Aktivkohle-Behandlung. Weitere Ansätze zur Verbesserung von Geruch, Geschmack und Färbung in zukünftigen Versuchen umfassen den Test anderer Aktivkohlepräparate, die Vorwäsche von Rohwaren und die Optimierung von Proteasekonzentrationen zur Verminderung von bitteren Geschmackskomponenten.

Es ergab sich eine begrenzte Möglichkeit der Entfärbung und Geschmacksverbesserung. Somit wurde der Focus auf die Prozessintegrierte Verbesserung des Geschmacks und Geruchs gelegt.

Dazu wurde als Material Reste vom im Fleischwolf zerkleinerten Sprotten genutzt. Die geräucherten Sprottenköpfe wurden von den KSTU Mitarbeitern gefroren an ANiMOX geliefert, Abbildung 12 zeigt die Rohware.










Abbildung 12: Sprottenköpfe als Ausgangsmaterial.

Für Analytik und Versuche wurden die Köpfe in einem Fleischwolf zerkleinert und homogenisiert, Abbildung 13 zeigt die Zerkleinerung und das Produkt.



Abbildung 13: Zerkleinerung der Sprottenköpfe im Fleischwolf (links), homogenisiertes Material (rechts).
 In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Musterherstellung aus geräucherten Sprottenresten der Firma Sa Rodinu, Kaliningrader Oblast dargestellt.

Tabelle 2: Proteinproben aus geräucherten Sprottenresten

Versuch	Proteinphase Vorwäsche	Proteinphase Hydrolyse	Proteinmehl / Sediment
B950 (Thermisch)			
B957 (Vorwäsche, Thermisch)			
B951 (Enzymatisch-Thermisch)			

Die Ergebnisse zeigen, daß die Proteinmehlreste relativ ähnlich gefärbt sind. Die extrahierten Proteinhydrolysate für den Lebensmittelgebrauch sind jedoch geschmacklich und farblich deutlich unterschiedlich. Die enzymatisch-thermischen Muster (B951) wiesen einen deutlichen Bittergeschmack und eine stärkere Färbung auf. Die beiden thermischen Muster mit und ohne

Vorwäsche waren deutlich heller und ohne geschmackliche Modifikation. Der Einfluss der Enzymwirkung wurde auch noch einmal separat untersucht und zeigte bereits bei geringer Konzentration eine geschmackliche Auswirkung (Abbildung 14).

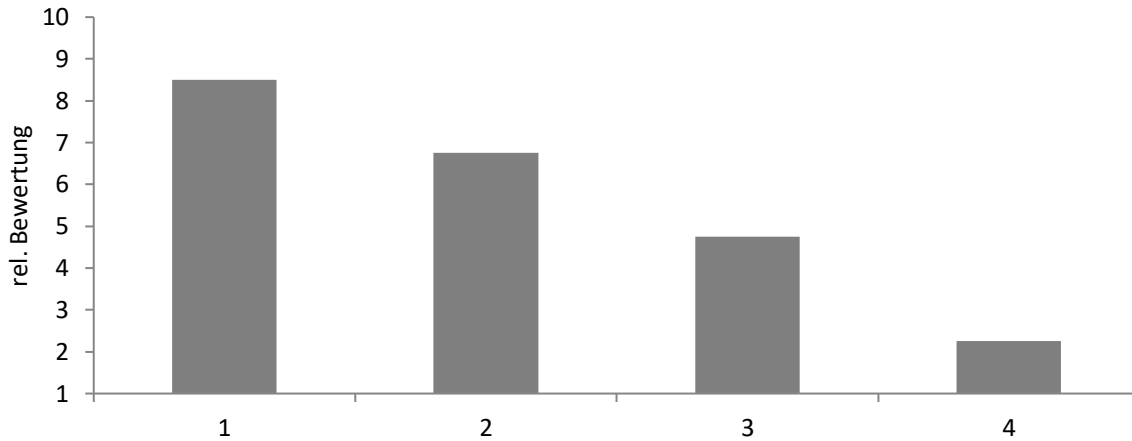


Abbildung 14: Bewertung des bitteren Geschmacksanteils von Proteinhydrolysaten in Abhängigkeit von der Protease Wirkung (1-4 abnehmende Enzymkonzentration von 0,1-0 % Protease) in Kombination mit der Thermo-Druck-Hydrolyse

Die Verkostung der Proben erfolgte im Blindversuch durch mehrere Mitarbeiter, durch die Mittelwertbildung ergaben sich trotz individuell sehr stark schwankender Einschätzungen belastbare und reproduzierbare Ergebnisse.

Somit zeigten die Ergebnisse in diesem Arbeitspaket, daß vor allem Prozessintegrierte Maßnahmen, die das Ausgangsmaterial und die Prozessschritte betreffen bereits bei der Herstellung für eine gute Produktqualität getroffen werden müssen. Reduzierungen von Geruch waren vor allem durch Sprühtrocknung der Proteinprodukte möglich. Reduzierungen im Geschmack und Färbung sind durch Filtration und Nachreinigung mit Aktivkohle oder Bentoniten möglich.

3.5.2 Nutzung der Möglichkeiten des Testlabors und der KSTU zur Entwicklung einer Materialvor- und -nachreinigung zur Reduzierung von Geruchs-, Geschmacks- und Farbkomponenten

Allen Fischprodukten ist ein spezifischer Fischgeruch und -geschmack inhärent, einschließlich der erzeugten Proteinhydrolysate, Fette und Protein-Mineral-Ergänzungen aus Fischabfällen. Fischgeruch und -geschmack werden durch Amine, insbesondere Trimethylamin und seine Derivate (Mono-, Di-, Oxymethylamine usw.), sowie durch flüchtige Fettsäuren, die während der Hydrolyse und Fettoxidation gebildet werden, verursacht.

In den Versuchen, den Fischgeruch zu reduzieren und den Geschmack von Proteinhydrolysaten in flüssiger Form zu verbessern, wurden bisher die Untersuchung der folgenden Methoden begonnen: Waschen des Rohmaterials vor Hydrolyse in Wasser, Waschen des Rohmaterials vor Hydrolyse in Molke, Hydrolyse in verschiedenen Enzymen, Pfefferminzextrakt, Durchlaufen von Hydrolysaten durch Aktivkohle, Einführung von Gelatinehydrolysaten (Herstellung von gelierten Proteinen). Bei Proteinhydrolysatpulver wurden die folgenden Verfahren verwendet: Dampfbehandlung (Destillation), Behandlung mit flüssigem Stickstoff, Mischung mit trockenem Chitosan, Mischung mit Gewürzen und Phytokomponenten.

Mischungen von Proteinhydrolysatpulver mit Chitosan und Phytobestandteilen wurden als Nahrungsergänzungsmittel für spezialisierte Nahrungsmittel reglementiert (Quellen von Glycin, Alanin, Arginin, Glutaminsäuren, um die Funktionen des zentralen Nervensystems aufrecht zu erhalten). In diesen Ergänzungen ist der Fischgeruch deutlich reduziert bzw. praktisch nicht vorhanden.

Gelatine und Dessertzusätze (Zimtpulver, Laubblätter, Salbeiblätter, Pfefferminzblätter und Geleedesserts) wurden in die flüssigen Hydrolysate von Schuppenproteinen (sie hatten den kleinsten Fischgeruch) eingebracht. In die flüssigen Hydrolysate aus den Makrelenköpfen wurden Gewürze (schwarzer Pfeffer, Petersilie, Basilikum, Laubblätter, Salbeiblätter, Zitronensäure, Speisesalz) eingeführt und in einem solchen Verfahren wurde ein Snackgelee gemacht.

Proteinhydrolysatpulver wurde zusammen mit Natriumalginat und Glucono-delta-lacton in einem Verhältnis von 65,0: 3,5: 1,0 auf TS-Basis in Fischsuppenwürfel eingebracht, was hohe organoleptische Eigenschaften von Fischbrühen und eine angenehm dicke Konsistenz (bei Rekonstitution mit Wasser) ergab.

Alle diese Methoden verbesserten den Geschmack von Proteinprodukten. Die effizientesten Verfahren waren den Geruch in einer Gelatinelösung zu "blockieren" und "Gelatine" auf einer Proteinbasis mit anderen Geschmacks- und Nahrungsmittelzusätzen herzustellen. In diesem Fall wird das Aroma des Fisches nicht gefühlt, aber der Geschmack wird angereichert. Fischhydrolysatflüssigkeit wurde in die Rezepte einiger Produkte, wie z.B. Kekse, Cracker, Cracker, u.ä. eingeführt. Besonders angenehmer Geschmack wurde durch die Verwendung von Proteinen aus geräucherten Sprottenköpfen in der Zusammensetzung von Salzgebäck erzielt, das sich mit einem fischig-pikanten angenehmen geräucherten Geruch herausbildete und als Snackprodukt zum Bier passt. In diesem Fall nahmen die Kekse eine braunere Farbe und ein schwaches angenehmes Aroma von geräuchertem Fisch an.

3.6 Aufbau von Qualitätstest der Protein- Öl- und Mineralikprodukte nach der Aufschlussphase im Testlabor (AP 6)

Die wichtigsten experimentellen Verfahren sind in GOST (wie DIN in Deutschland) 7636 "Fische, Meeressäugetiere, wirbellose Meerestiere und Verarbeitungsprodukte. Analysemethoden» geregelt.

Hauptparameter von Endprodukten:

1) Proteinhydrolysate (Pulver oder Flüssigkeit) für Lebensmittelzwecke.

In den folgenden Tabellen sind die organoleptischen und physikalisch-chemischen Anforderungen der Proteinhydrolysate dargestellt.

Tabelle 3: Organoleptische Eigenschaften

Name	Charakteristik und Norm
Optik	Fein dispergiertes lyophilisiertes Pulver oder dicke Flüssigkeit
Größe der Pulverpartikel	Nicht mehr als 0,02 mm
Pulverfarbe	Sand, verschiedene Schattierungen von hellbrauner Farbe sind erlaubt
Flüssigkeitsfarbe	Von hell bis dunkelbraun
Geruch	Spezifisch, charakteristisch für diese Art von Produkten, mit Schattierungen von getrocknetem Fisch, ohne Fremdgeruch oder Diskreditierung
Geschmack	Spezifisch, charakteristisch für diese Art von Produkt, mit Schattierungen von getrocknetem Fisch, ohne fremden oder fehlerhaften Geschmack
Konsistenz	Sanft, bröckelig, leicht benetzbar, frei von Fremdstoffen oder Flüssigkeiten, homogen, frei von Fremdstoffen

Tabelle 4: Physikalisch-chemische Eigenschaften

Name	Charakteristik und Norm
Wasser, %, nicht mehr als	8,0 (Pulver) oder 50 (Flüssigkeit)
Fette, % TS, nicht mehr	7,0
Proteinanteil, % TS, nicht weniger als	80,0
Gehalt von AS-Glyzin, % Eiweiß, nicht weniger als	6,0
Gehalt von AS-Oxyprolin, % Eiweiß, nicht mehr als	1,5

2) Protein-mineralisches Produkt

In den folgenden Tabellen sind die organoleptischen und physikalisch-chemischen Anforderungen der Protein-mineralischen Produkte dargestellt.

Tabelle 5: Organoleptische Eigenschaften

Name	Charakteristik und Norm
Optik	Fein dispergiertes lyophilisiertes Pulver oder dicke Flüssigkeit
Größe der Pulverpartikel	Nicht mehr als 0,02 mm
Pulverfarbe	Creme, verschiedene Schattierungen von hellbraun sind erlaubt
Flüssigkeitsfarbe	Spezifisch, charakteristisch für diese Art von Produkten, mit Schattierungen von getrocknetem Fisch, ohne Fremdgeruch oder Diskreditierung
Geruch	Spezifisch, charakteristisch für diese Art von Produkt, mit Schattierungen von getrocknetem Fisch, ohne fremden oder fehlerhaften Geschmack
Geschmack	Sanft, bröckelig, leicht benetzbar, frei von Fremdstoffen oder Flüssigkeiten, homogen, frei von Fremdstoffen

Tabelle 6: Physikalisch-chemische Eigenschaften

Name	Charakteristik und Norm
Wasser, %, nicht mehr als	6,0
Proteinanteil, % TS, nicht mehr als	60,0
Anteil min. Stoffe, % TS, nicht weniger als	50,0
Anteil Ca, %, nicht weniger als	10
Anteil P, %, nicht weniger als	5

3) Fischöleigenschaften

Folgende Eigenschaften sind von hoher Bedeutung:

- Geruch und Geschmack ist charakteristisch für diese Fettart, ohne Anzeichen von Ranzigkeit
- Transparenz - transparent bei t über 12-13 °C
- Massenanteil an Feuchtigkeit und nicht-fettigen Verunreinigungen - unter 0,1 %
- Säurezahl - nicht mehr als 4 mg KOH / g
- Peroxidzahl – nicht mehr als 10 mmol aktiver Sauerstoff / kg

Der Indikator der gesamten mikrobiellen Kontamination für alle Produkte darf nicht kritischen Wert von $1,0 \times 10^4$ Zellen/g überschreiten.

4) Analysenvergleich

Zur Durchführung von verlässlichen Analysen von Produktmustern und Proben aus Optimierungsversuchen stellte ANiMOX eine umfassende Auswahl von Arbeitsanweisungen zur Verfügung und unterstützte die Mitarbeiter im Kompetenzzentrum bei der Etablierung der Qualitätsmanagement-Prozesse. Darunter waren Methoden für wichtige Grundparameter wie den Trockensubstanz- und Aschegehalt oder entscheidende Produktparameter wie der lösliche Anteil eines getrockneten Proteinhydrolysates. Diese Methoden werden eng mit Biotech und der KSTU abgestimmt und wurden zu einer guten Unterstützung der Produktentwicklung und der Qualitätskontrolle ausgebaut. Zum Abgleich der Methoden wurden Vergleichsanalysen bei ANiMOX und im Kompetenzzentrum (Biotech/KSTU) durchgeführt. In Tabelle 7 ist ein Vergleichsablauf in Bezug auf die Sprottenanalytik dargestellt.

Tabelle 7: Analysenvergleich homogenisierte Sprottenköpfe

Parameter	KSTU			ANiMOX		
	Messung 1	Messung 2	MW	Messung 1	Messung 2	MW
Wasser	61,11	61,01	61,06	59,0	55,8	57,4
TS	38,89	38,99	38,94	41,0	44,2	42,6
Fett	16,00	15,975	15,987	16,62	17,68	17,2
Protein (N x 6,25)	15,06	17,976	16,518	17,3	20,0	18,6
Asche	5,22	5,276	5,249	5,70	5,4	5,55
Summe	97,39	100,237	98,814	98,6	98,9	98,8

Die Analysenergebnisse für die Sprotten-Rohware stimmen gut überein. Es zeigen sich leichte Abweichungen in der TS, dem Proteingehalt und dem Fett. Es wurden ebenfalls Bilanzierungsvergleiche durchgeführt, wie es im Abschnitt 3.2.8 dargestellt ist. Durch diese Vergleiche konnte die Übertragbarkeit von Versuchen zwischen ANiMOX und dem Kompetenzzentrum belegt werden.

3.7 Entwicklungen und Untersuchungen zur Proteingewinnung aus verschiedenen Rohwaren (AP 7)

3.7.1 Variationen des Proteinaufschlusses entsprechend der Ergebnisse des Qualitätstests

Basierend auf den erarbeiteten Qualitätsvorgaben wurden verschiedene Versuchsreihen mit Materialien von Firmen aus dem Kaliningrader Bezirk durchgeführt. Hier sollten weitere Entwicklungsvorgaben und Untersuchungen zur Entwicklung des Proteinaufschlusses entsprechend der Ergebnisse des Qualitätstests eingearbeitet werden.

Eine wichtige Versuchsreihe von der Rohware bis zum Produkt war die Untersuchung mit Resten geräucherter Sprotten aus dem Kaliningrader Oblast. Von diesem Material fallen ca. 10 Tonnen pro Tag bei verschiedenen Firmen mit dem Schwerpunkt Sa Rodinu an, die derzeit nicht verwertet werden können. Somit wurde ein Versuchsschema entwickelt und drei Varianten mit Thermo-Druck, mit Vorwäsche und mit enzymatisch-thermischer Kombination durchgeführt. Die Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt.

Thermische Hydrolyse bei 130 °C / 1 h

Es wurden 500 g homogenisierte Sprottenköpfe mit 500 g heißem Wasser angemaischt und 60 min bei 130 °C im Versuchsautoklaven hydrolysiert. Nach Trennung der Hydrolysesuspension mittels Zentrifugation (3500 x g, 10 min) ergab sich die in Tabelle 8 dargestellte Zusammensetzung der Phasen.

Tabelle 8: Analysenergebnisse des Ausgangsmaterials und der Phasen aus der thermischen Hydrolyse von geräucherten Sprottenköpfen bei 130 °C, 60 min. Werte in Klammern sind TS-bezogen.

Probe	TS (kg/100 kg)	Protein (kg/100 kg)	Fett (kg/100 kg)	mTS (kg/100 kg)	Masseanteil (kg/100 kg)
Ausgang	41,3	18,6 (45,1)	17,2 (41,5)	5,55 (13,4)	-
Maische	20,7	9,31 (45,1)	8,58 (41,5)	2,78 (13,4)	100
Proteinphase	5,58	4,97 (89,2)	0,27 (4,77)	0,34 (6,07)	61,3
Festphase	33,9	19,3 (56,9)	6,69 (19,7)	7,91 (23,3)	32,5
Fettphase	100	0,00 (0,00)	100 (100)	0,00 (0,00)	6,24

Der wässrige Überstand wies einen Proteinanteil/TS von ca. 89,2 % auf. Auf Basis dieser Daten und der Verteilung der Komponenten wurde die Bilanz für eine einstufige Hydrolyse erstellt (siehe Punkt 3.1.8). Die Proteinausbeute lag bei 32,7 % (6,97 % pro Ausgangsmaterialeinsatz); die Fettausbeute lag bei 72,8 % (12,5 %). Abbildung 15 zeigt den Hydrolyseansatz nach der Trennung in der Zentrifuge.



Abbildung 15: Getrennte Phasen nach der thermischen Hydrolyse und Zentrifugation.

Vorwäsche und thermische Hydrolyse bei 130 °C / 1 h

500 g homogenisierte Sprossenköpfe wurden mit 500 g heißem Wasser angemaischt und die entstandene Mischung per Hand geschüttelt, bis eine homogene Maische entstand. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation des Vorwäscheansatzes (3500 x g, 10 min). Dabei ergaben sich eine Sedimentphase, eine wässrige Proteinphase und eine Fettphase. Abbildung 16 zeigt den Vorwäscheansatz, die Zentrifugenbecher, sowie Protein- und Fettphase in der Trennung.

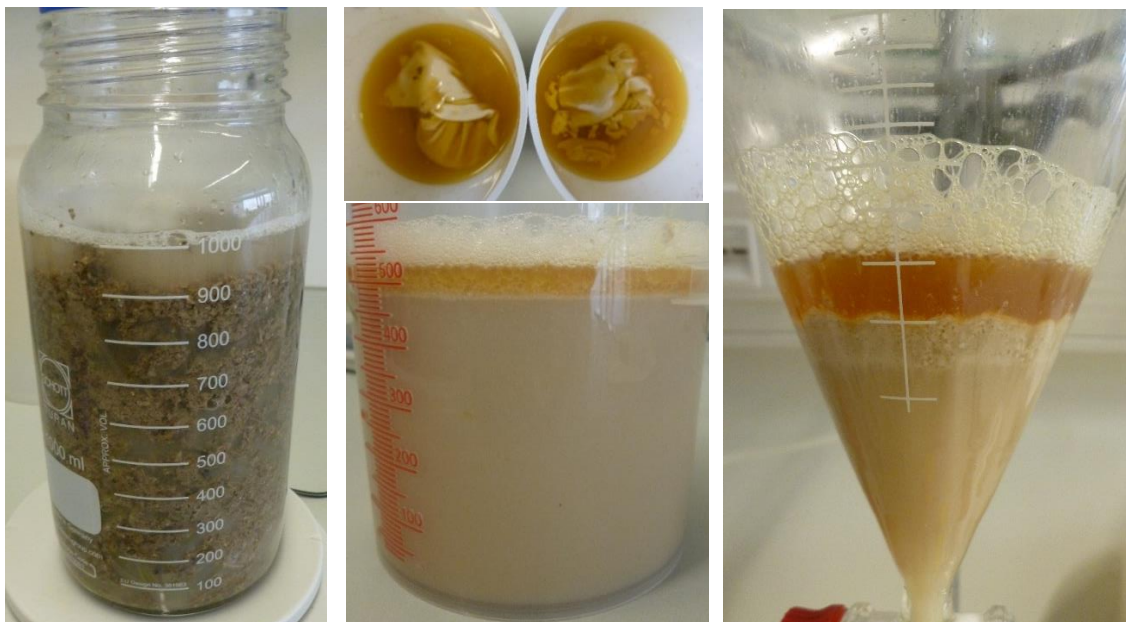


Abbildung 16: Vorwäsche / Vorentfettung der zerkleinerten Sprossenköpfe. Sprossenköpfe mit Wasser versetzt (links); Zentrifugierte Wäsche mit Fettphase (Mitte Oben) und wässrige Phase und Fettphase (rechts Unten).

Das bei der Vorwäsche enthaltene Sediment (472,2 g) wurde mit 472,2 g Wasser angemaischt und 60 min bei 130 °C im Versuchsautoklaven hydrolysiert. Nach Trennung der Hydrolysesuspension mittels Zentrifugation (3500 x g, 10 min) ergab sich die in Tabelle 9 dargestellte Zusammensetzung aller Phasen.

Tabelle 9: Analysenergebnisse des Ausgangsmaterials und der Phasen aus der Vorwäsche und thermischen Hydrolyse von geräucherten Sprottenköpfen bei 130 °C, 60 min. Werte in Klammern sind TS-bezogen.

Probe	TS(kg/100 kg)	Protein (kg/100 kg)	Fett (kg/100 kg)	mTS (kg/100 kg)	Masseanteil (kg/100 kg)
Ausgang	41,3	18,6 (45,1)	17,2 (41,5)	5,55 (13,4)	-
Theor. Gesamtmaische	14,1	6,35 (45,1)	5,85 (41,5)	1,89 (13,4)	100
Proteinphase 1	2,95	2,30 (78,0)	0,21 (7,23)	0,44 (14,7)	33,8
Fettphase 1	100	0,00 (0,00)	100 (100)	0,00 (0,00)	2,63
Proteinphase 2	3,78	3,36 (89,0)	0,14 (3,68)	0,28 (7,32)	41,0
Fettphase 2	100	0,00 (0,00)	100 (100)	0,00 (0,00)	1,49
Fettphase 1+2	100	0,00 (0,00)	100 (100)	0,00 (0,00)	4,12
Festphase	35,3	19,9 (56,5)	7,60 (21,5)	7,77 (22,0)	21,0

Die Proteinphase der Vorwäsche wies einen Proteinanteil/TS von ca. 78,0 % auf, die Proteinphase aus der Hydrolyse 89,0 %. Auf Basis dieser Daten und der Verteilung der Komponenten wurde die Bilanz für eine Vorwäsche mit anschließender einstufiger Hydrolyse des Sediments erstellt (siehe Punkt 3.1.8). Die Proteinausbeute der Vorwäsche lag bei 12,3 % (2,99 % pro Ausgangsmaterialeinsatz); die Proteinausbeute der Hydrolyse lag bei 21,7 % (4,63 % pro Ausgangsmaterialeinsatz); die Fettausbeute beider Fettphasen lag bei 70,5 % (12,1 %).

Enzymatisch-Thermische Hydrolyse

Es wurden 500 g homogenisierte Sprottenköpfe mit 500 g heißem Wasser angemaischt und auf eine Temperatur von 50 °C aufgewärmt. Anschließend wurden 2,5 mL Alcalase 2.5L (Novozymes) zugesetzt und der Ansatz im Schüttler bei 50 °C inkubiert (siehe Abbildung 17).



Abbildung 17: Ansatz der enzymatischen Vorbehandlung im temperierten Schüttler.

Nach der enzymatischen Behandlung wurde der gesamte Ansatz für 60 min bei 130 °C im Versuchsautoklaven hydrolysiert. Nach Trennung der Hydrolysesuspension mittels Zentrifugation (3500 x g, 10 min) ergab sich die in Tabelle 10 dargestellte Zusammensetzung der Phasen.

Tabelle 10: Analysenergebnisse des Ausgangsmaterials und der Phasen aus der enzymatisch-thermischen Hydrolyse von geräucherten Sprottenköpfen bei 130 °C, 60 min. Werte in Klammern sind TS-bezogen.

Probe	TS (kg/100 kg)	Protein (kg/100 kg)	Fett (kg/100 kg)	mTS (kg/100 kg)	Masseanteil (kg/100 kg)
Ausgang	41,3	18,6 (45,1)	17,2 (41,5)	5,55 (13,4)	-
Maische	20,7	9,31 (45,1)	8,58 (41,5)	2,78 (13,4)	100
Proteinphase	7,65	6,91 (90,4)	0,23 (3,02)	0,51 (6,61)	70,9
Festphase	38,9	19,5 (50,1)	8,71 (22,4)	10,7 (27,5)	22,6
Fettphase	100	0,00 (0,00)	100 (100)	0,00 (0,00)	6,44

Der wässrige Überstand wies einen Proteinanteil/TS von ca. 90,4 % auf. Auf Basis dieser Daten und der Verteilung der Komponenten wurde die Bilanz für eine einstufige Hydrolyse erstellt (siehe Punkt 3.1.8). Die Proteinausbeute lag bei 52,7 % (11,1 % pro Ausgangsmaterialeinsatz); die Fettausbeute lag bei 75,1 % (12,9 %).

Die Musterproben, bereits in Tabelle 2 dargestellt und bewertet, zeigen teilweise eine sehr gute Verwertbarkeit und wurden als Basis für die Analgenplanungen genutzt. Neben dem Proteinhydrolysat wurde auch ein Räucherfischöl mit guten geschmacklichen Eigenschaften gewonnen (siehe Abschnitt 3.2.9). Somit ist eine vollständige Verwertung der Lebensmittel-Nebenprodukte möglich.

Neben diesen Untersuchungen wurden ebenfalls Versuche mit Schweinematerialien (Fleischknochen), mit Fischmaterialien der Firma Baltic Biotech (siehe auch Abschnitt 3.2.9) und der Firma Roskon, Pionerskij (Kaliningrader Oblast) durchgeführt.

3.7.2 Nutzung der im Kompetenzzentrum etablierten Techniken zur Umsetzung der Entwicklung des Proteinaufschlusses im Testlabor

Insgesamt wurden im Testlabor von Inbetriebnahme des Kompetenzzentrums Ende November 2017 bis jetzt 81 Hydrolysetests mit proteinhaltigen Nebenprodukten durchgeführt: 78 tierischer Herkunft (vor allem Fisch) und 3 pflanzlicher Herkunft (Lupine und Birtreber). Das Ziel dieser Experimente war die Daten über optimale Methoden zur Gewinnung hochwertiger Lebensmittelzusatzstoffe mit akzeptablen sensorischen Eigenschaften zu bekommen. Der optimale Prozess soll eine klare Trennung von Fraktionen, gezielte Modifikation von Proteinen

sowie maximale Protein- und Fettausbeuten sicherstellen. Hierzu werden die chemischen Zusammensetzungen der Rohstoffe, flüssigen Halbzeuge, getrocknete und flüssige Endprodukte sowie deren organoleptischen Eigenschaften bestimmt.

Die Hauptschritte des Prozesses zum Proteinaufschluss sind in verschiedenen Zusammensetzungen: Kontrolle, Protokollierung und Aufbewahrung Rohware, Auftauen der Rohware, Vorwäsche der Rohware (wenn nötig), Zerkleinerung der Rohware, Mischung des Zerkleinerten Materials mit Warmwasser, enzymatische Hydrolyse, thermische Hydrolyse, kombinierte enzymatische und nachfolgend thermische Hydrolyse, Separation von Fraktionen, Konzentrierung (wenn nötig), Trocknung, Zerkleinerung getrocknete Produkte, Packung, Protokollierung und Aufbewahrung, Versuchsanalyse. Die sämtlichen Techniken zur Umsetzung der Entwicklung des Proteinaufschlusses wurden durch das Personal des Kompetenzzentrums gemeistert und in die Laborpraxis im Kompetenzzentrum umgesetzt.

Zusammenfassend haben die durchgeführten Tests mit Fischnebenprodukten gezeigt (Tabelle 11), dass die höchste Trockensubstanzausbeute von Makrelenköpfen (15,8%) bei Hydrolysaten mit der kombinierten Hydrolysemethode unter Verwendung des Enzyms Alcalase L 2.4 erreicht wurde. Es ist vernünftig, eine thermische Hydrolyse (T-Hydrolyse) bei 130 °C durchzuführen. T-Hydrolyse (ohne Fermentation) bei 130 °C liefert eine bessere Trennung der Fettfraktion, der Fettgehalt in den Proteinfraktionen war minimal und lag im Bereich von 0,44 bis 1,68%, was für Protein-Lebensmittelzusatzstoffe akzeptabel ist.

Tabelle 11: Die Abhängigkeit der Trockenstoffausbeute in den Hydrolysaten der Köpfe von Makrelen, Sardinen und Sardinellen in Abhängigkeit von der Hydrolysemethode und der Temperatur der Thermohydrolyse (Gew .-% der Rohstoffe)

Testbedingungen	T-Hydrolyse 115 °C	T-Hydrolyse bei 130 °C	
	TS-Ausbeute, Gew .-% der Rohstoffe		
	Makrelen- köpfe	Sardinen- köpfe	Sardinella- köpfe
Enzymatische Hydrolyse (Alcalase L 2,4, 0,25 %, 120 min)	-	10,2	12,2
Enzymatische Hydrolyse (Alcalase L 2,4, 0,25 %, 120 min) + thermische Hydrolyse 130 °C, 60 min	14,3	14,4	15,8
Enzymatische Hydrolyse (Protamex, 0,25 %, 120 min) + thermische Hydrolyse	10,11	-	-
Thermische Hydrolyse 60 min (ohne Enzym)	7,83	8,81	10,6

In Tabelle 12 sind einige Beispiele von Hydrolyseprodukten aus Fischnebenprodukten dargestellt, die im Kompetenzzentrum produziert wurden.

Tabelle 12: Beispiele von Proteinhydrolysaten und protein-mineralischen Produkten aus Fischnebenprodukten aus enzymatischen und thermischen Hydrolysen

<p>Oben protein-mineralische Produkte, unten Proteinhydrolysate aus E-Hydrolyse von Makrelengräten mit Protamex und Flavourzyme 0,25 %, 2 Std.</p>	<p>Proteinhydrolysat (links) und protein-mineralisches Produkt (rechts) aus E-Hydrolyse von Sardinellaschuppen mit Protamex und Flavourzyme 0,25 %, 2 Std.</p>
<p>Proteinhydrolysat (links) und protein-mineralisches Produkt (rechts) aus T-Hydrolyse von geräicherten Sprottenköpfen von Fischfabrik RosKon, Pionerskij, Kaliningrader Gebiet bei 130 °C, 60 min</p>	<p>Proteinhydrolysat (links) und protein-mineralisches Produkt (rechts) aus T-Hydrolyse von geräicherten Sprottenköpfen von Fischfabrik Sa Rodinu, dorf Wsmorje, Kaliningrader Gebiet bei 130 °C, 60 min</p>

3.8 Entwicklung und Transfer der Techniken und Berechnungsmodelle zur Untersuchung der Ausbeuten und Masseströme (AP 8)

3.8.1 Referenzversuche bei ANIMOX

Für die Entwicklung eines Anlagenkonzeptes war ein weiterer Transfer der notwendigen Techniken und Berechnungsmodelle zur Untersuchung der Proteinausbeute, Reproduzierbarkeit und Produktstabilität in das Testlabor im Kompetenzzentrum notwendig. Diese Übertragung wurde anhand von Bilanzierungen der Versuche durchgeführt (Abbildung 18 - Abbildung 20), die nachfolgend im Kompetenzzentrum übertragen und mit anderen Materialien reproduziert werden konnten. So wurden die Bilanzierungen der Versuche mit den geräucherten Sprottenresten übertragen und Varianten in der Excel-basierten Bilanzierung diskutiert, aufgeklärt und für die Entwicklung eines Anlagenkonzeptes implementiert.

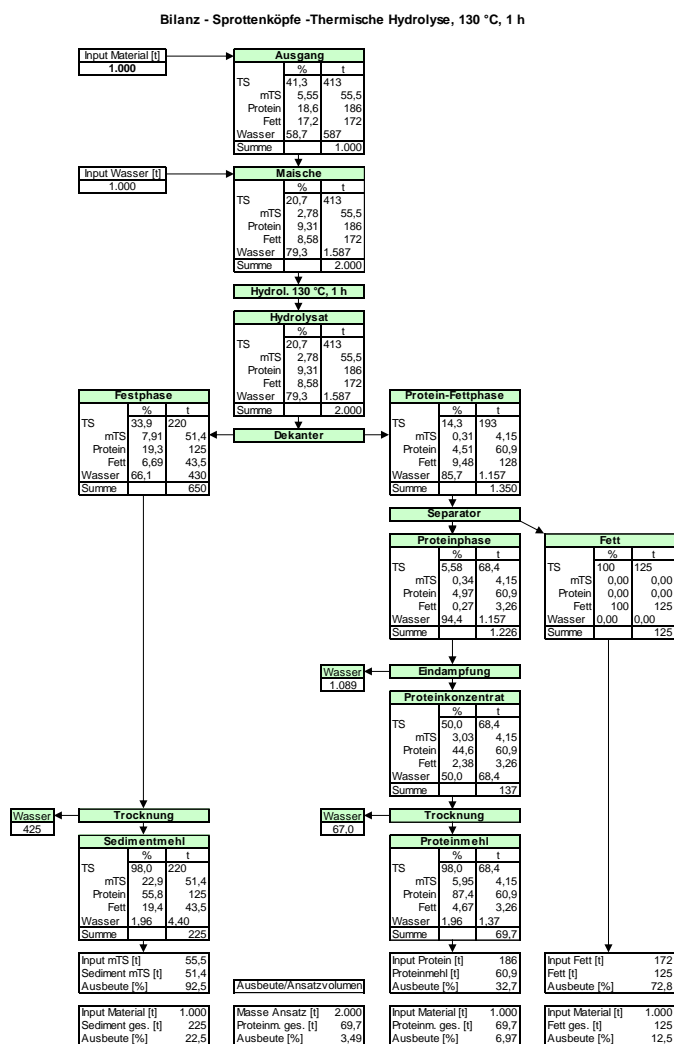


Abbildung 18: Bilanz Sprottenköpfe thermische Hydrolyse

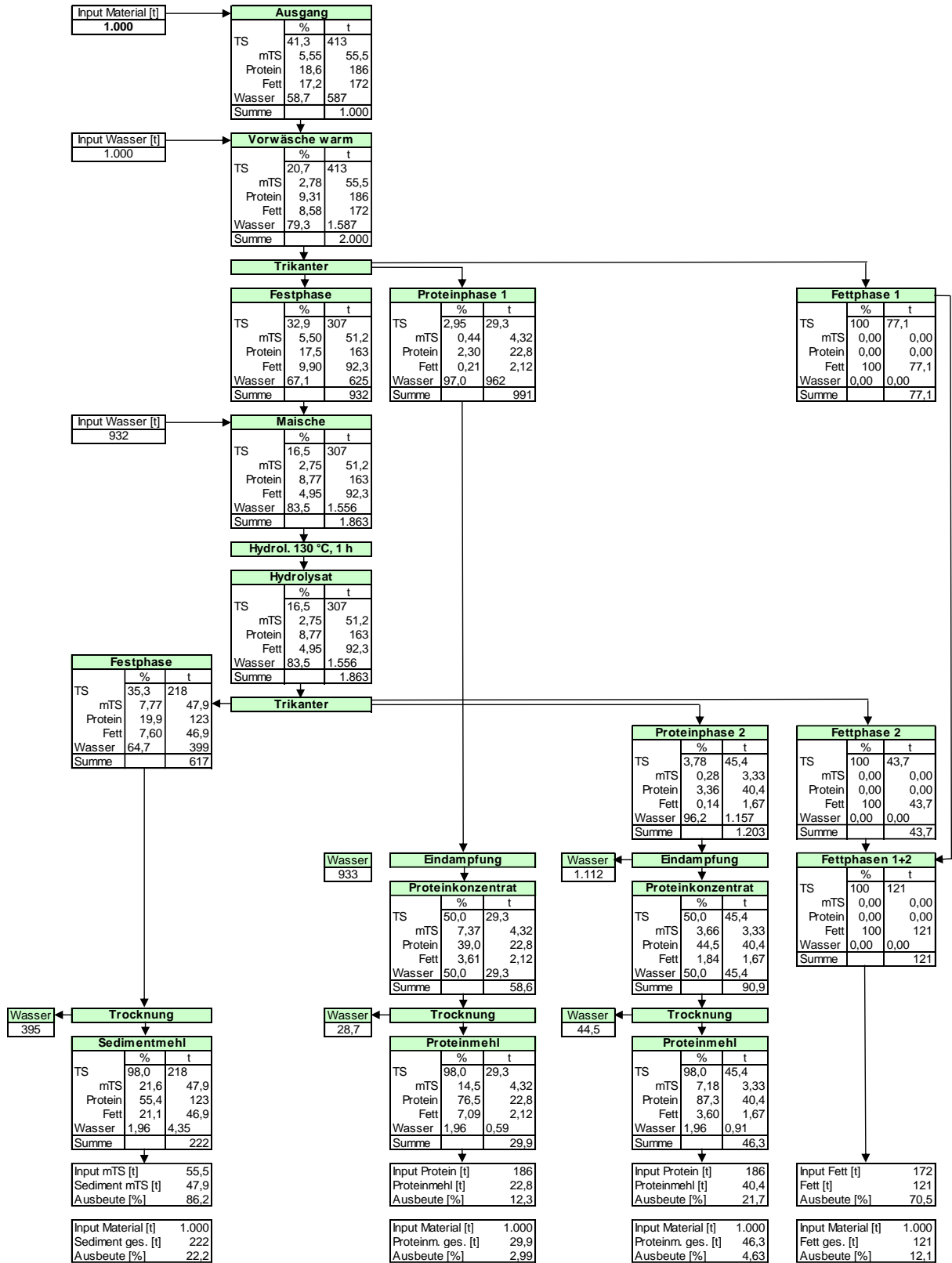


Abbildung 19: Bilanz Sprotenhydrolyse mit Vorwäsche

Bilanz - Sprottenköpfe - Enzymatisch-Thermische Hydrolyse, Alcalase + 130 °C, 1 h

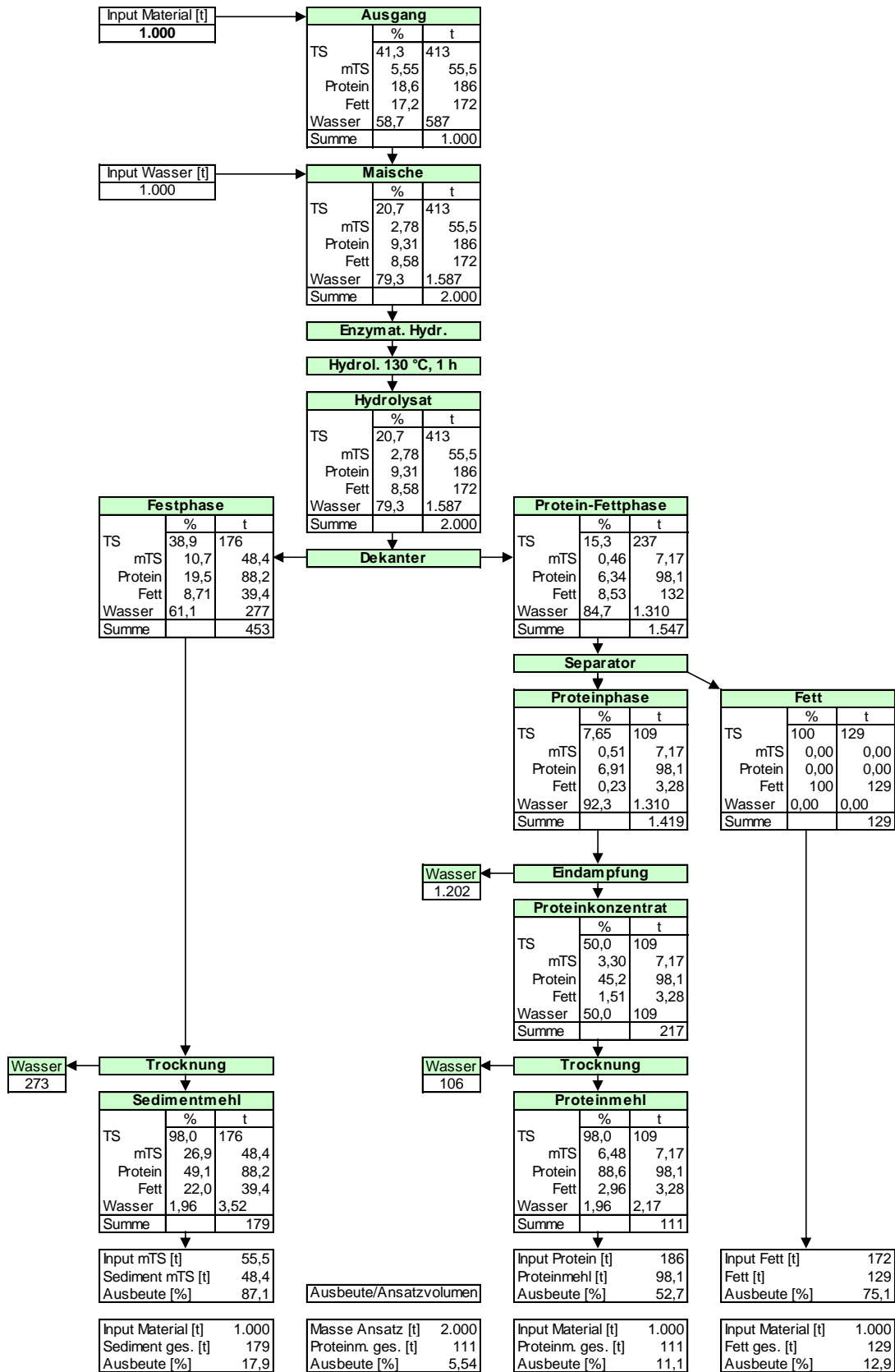


Abbildung 20: Bilanz Sprottenhydrolyse enzymatisch-thermisch

Die Bilanzierungen geben eine gute Aussage über die Produktströme in den verschiedenen Fraktionen. Man kann die Massenanteile bezogen auf das Ausgangsmaterial entnehmen und die Zusammensetzung möglicher Produkte ablesen. Vergleicht man in Abbildung 17 die rein thermische Hydrolyse mit der in Abbildung 19 dargestellten enzymatisch-thermischen Hydrolyse so erkennt man sofort die von 32,7 auf 52,7 % verbesserte Proteinausbeute. Durch die höhere Proteinausbeute verringert sich jedoch auch der Proteinanteil im Proteinmehl, dem zweiten Produkt von 55,8 auf 49,1 %. Dadurch wird die Vermarktbarkeit dieses Produktanteils im Futtermittel schlechter. Die Fettausbeute ist bei beiden Versuchsvarianten hingegen mit 72 und 75 % sehr ähnlich. Anhand dieser Daten können jetzt die verschiedenen Verfahrenstechnischen Optionen genutzt werden, um die Produktkomponenten qualitativ und quantitativ zu optimieren. Man kann die zur Entsorgung vorliegende Menge als Ausgang hinterlegen und Produktströme und die Durchsätze pro Stunde kalkulieren. Hinterlegt man jetzt noch zu den möglichen Produkten einen Preis, so können schnell mögliche Umsätze und die Wirtschaftlichkeit berechnet werden. Diese Daten dienen dann im Projekt als Basis für die Erarbeitung eines Anlagenkonzeptes.

3.8.2 Transfer der Techniken und Berechnungsmodelle zur Untersuchung der Proteinausbeute, Reproduzierbarkeit und Produktstabilität in das Kompetenzzentrum Kaliningrad

Die durchgeführten Tests ermöglichten die Berechnung des Hydrolyseprozesses anhand der Massenbilanz der Produktion von Halbfertig- und Fertigprodukten sowie der Bilanz der wichtigsten chemischen Substanzen (Trockensubstanzen, Proteine, Fette und Mineralstoffe) bei allen technologischen Operationen. Die Techniken und Berechnungsmodelle wurden vom Projektpartner ANiMOX GmbH (siehe Abbildung 21) erlernt und in die Arbeit des Kompetenzzentrums integriert (siehe Abbildung 22).

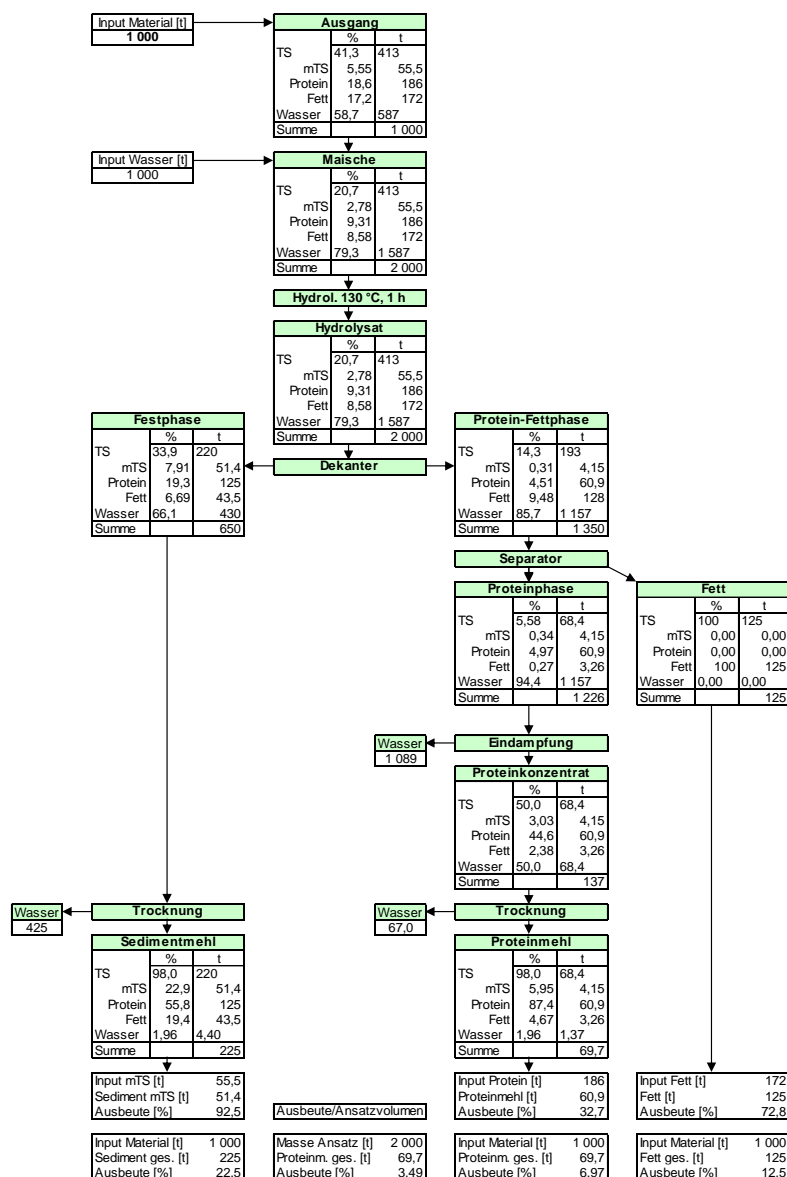


Abbildung 21: Bilanz - Sprotenköpfe -Thermische Hydrolyse, 130 °C, 1 h bei ANiMOX

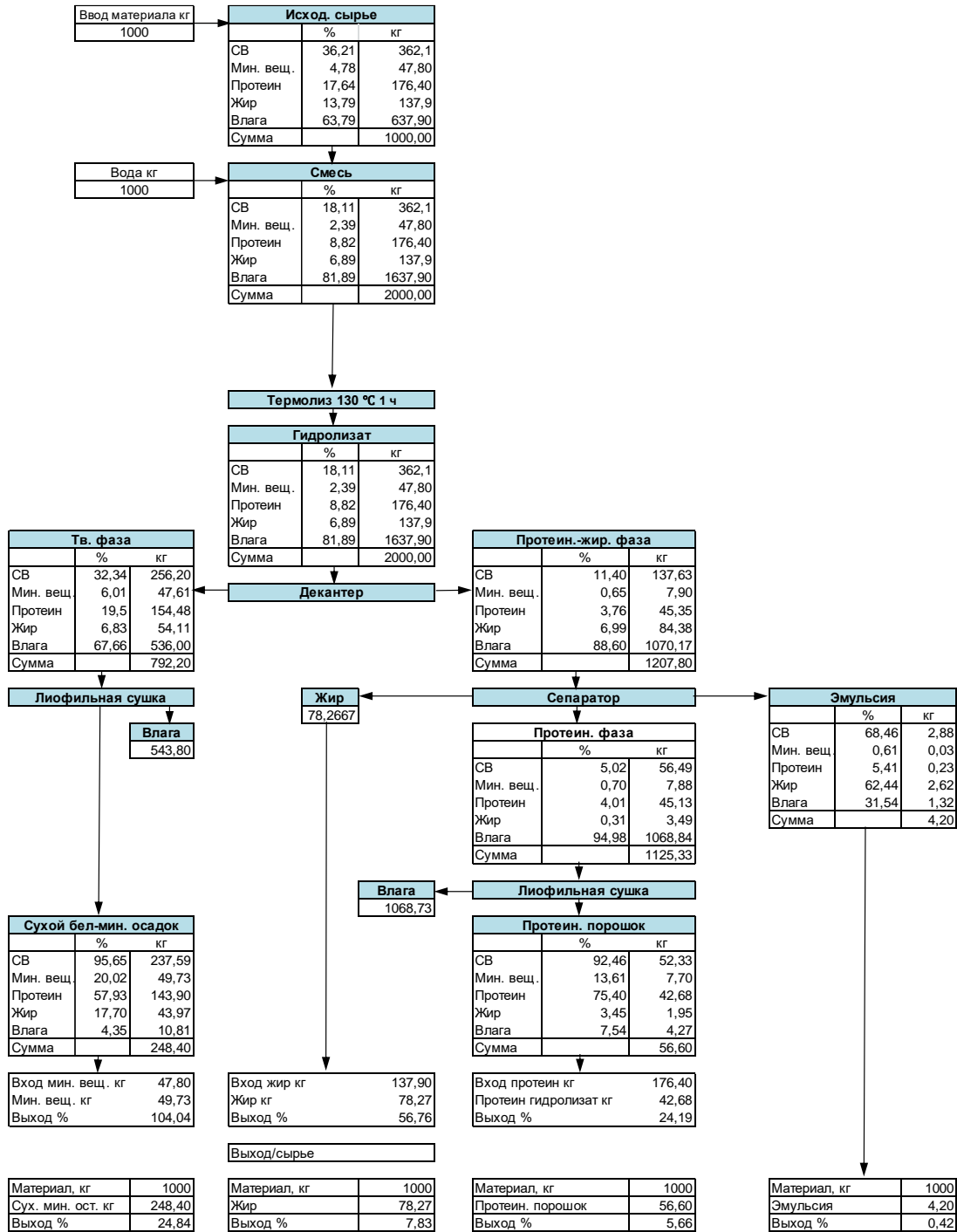


Abbildung 22: Bilanz - Sprottenköpfe -Thermische Hydrolyse, 130 °C, 1 h im Kompetenzzentrum

Aus der Analyse von Bilanzen der Hydrolyserversuche im Kompetenzzentrum folgt, dass die Ausbeute von Proteinhydrolysaten 5,98–11,3% des Gesamtgewichts der Fischabfälle beträgt. Die Ausbeute des protein-mineralischen Produkts beträgt 19,97 - 29,77 des Gesamtgewichts der Fischabfälle. Die Fettausbeute betrug bei der Hydrolyse von 0 % bei einer hoher Emulsionsbildung bei kombinierten Hydrolysen enzymatisch + thermisch bis 115 °C sowie bei der Hydrolyse von Schuppen (fettarmer Rohstoff).

Bei thermischen Hydrolysen bei 130 °C mit Sprottenköpfen lag die Fettausbeute von 7,83 % bis 12,9 %. Das zeigt, dass die Kombination der enzymatischen Hydrolyse mit thermischer Hydrolyse mit Temperaturen bis 115 °C nicht effizient ist, wobei thermische Hydrolysen bei 130 °C effektiv sind und sogar die Fettausbeute erhöhen. Noch positiver hat sich die Vorentfettung bei Temperierung und Separierung von Fett bei Temperaturen von 80 bis 90 °C für 10 min gezeigt und wird für fettreiche Rohwaren, vor allem zur Gewinnung des wertvollen Fischöls aus frischem Material empfohlen. Bei enzymatischen Hydrolysen führt eine Erhöhung der Dosierung des Enzyms von 0,05 % auf 0,25 % vom Gesamtgewicht zum Anstieg der Ausbeuten des Proteinhydrolysats am Beispiel von Makrelenköpfen (von 5,98 auf 11,28%) und bei der kombinierten Hydrolyse von Sprottenabfällen (von 8,76 auf 11,07%).








Der höchste Proteingehalt (94,5 %) wurde in Proteinhydrolysaten aus Sardinellaschuppen nach einer kombinierten Hydrolysemethode (enzymatisch + thermisch) mit einer Enzymdosis von 0,1% erreicht. Die Analyse der anderen erhaltenen Massenbilanzen aus Fischnebenprodukten außer Schuppen zeigt, dass Proteinhydrolysate mit Proteingehalt (85,8 %) aus den Makrelenköpfen aus enzymatischer Hydrolyse 2 Stunden bei der Dosierung der Enzyme Protamex und Flavourzyme 0,1 % erhalten werden.

Das Verfahren zur Berechnung von Massenbilanzen für Hydrolysevorgänge von Nebenprodukten ermöglicht die Auswahl geeigneter Verfahren und Hydrolysemodi für jeden Rohstoff in Abhängigkeit von seinem Fett-, Protein- und Mineraliengehalt, um die maximale Ausbeute an Proteinfraction bei maximalem Proteingehalt zu erhalten.

3.9 Nutzung der Techniken zur Entwicklung von Protein-, Öl- und Mineralik- Mustern für die Testmaterialien. Einbindung der Praxispartner beim Aufbau des Anlagenkonzeptes (AP 9)

Es wurden mehrere Tests zur Verwendung von Hydrolyseprodukten (Proteinhydrolysat, Fett und protein-mineralische Produkte) in Lebensmitteln durchgeführt. In Tabelle 13 sind einige Beispiele von solchen Produkten dargestellt, die erfolgreich in Lebensmittelprodukte integriert wurden.

Tabelle 13: Beispiele von Lebensmittelprodukten mit Einsatz von Hydrolyseprodukten (Proteinhydrolysat, Fett und protein-mineralische Produkte)

	<p>Lebensmittelergänzung «Phytoprotein» für Sportler (60 % Proteinhydrolysat aus Sardinenschuppen + 40 % Kamelienextrakt) zum Wiederaufbau von Gelenken und Muskeln</p>
	<p>Proteinriegel "Honig" mit Haferflocken für Sportler zum Wiederaufbau von Gelenken und Muskeln direkt nach Training (6,3% Proteinhydrolysat aus Sardinenschuppen)</p>
	<p>Proteinriegel "Schokolade" mit Haferflocken für Sportler zum Wiederaufbau von Gelenken und Muskeln direkt nach Training (8,4% Proteinhydrolysat aus Sardinenschuppen)</p>
	<p>Wurst "Sportlich" (aus Schweinefleisch und Rindfleisch mit Zusatz von 2% protein-mineralisches Produkt für den Bewegungsapparat)</p>
	<p>Cracker "FischKa" (Proteinsnack mit Raucharoma) mit Zusatz von 50% der Masse des flüssigen Proteinhydrolysat aus Sprottenköpfen</p>
	<p>Mayonnaise "Maritim" mit 20% der Fettmasse aus Fischöl von Makrelenköpfen mit erhöhtem Gehalt von Omega-3 Fettsäuren</p>
	<p>Fischsuppenpulver mit 15 % Fischproteinhydrolysat</p>

Unter anderem wurden die Forschungsergebnisse zur Herstellung von Proteinen, Protein-Mineralien und Fettzusätzen aus geräucherten Sprottenköpfen verwendet, den am häufigsten anfallenden Fischabfällen in der Region Kaliningrad. In 6 bis 12 Fischfabriken fallen täglich 6 bis 12 Tonnen geräucherte Sprottenköpfe an, die nicht in irgendeiner Weise verwendet, sondern verbrannt oder auf andere Weise vernichtet werden. Dabei enthalten geräucherte Sprotten viele wertvolle Proteine (bis zu 18-20 Gew.-%), Fette (bis zu 14-18 %), Mineralstoffe (3-6%). Geräucherte Sprottenköpfe enthalten im Gegensatz zu herkömmlichen Fischabfällen Räucherkomponenten, die eine Verwendung dieser Abfälle zu Futterzwecken (für Tiere) nicht geeignet macht. Menschen verwenden jedoch gerne geräucherte Fischprodukte. Daher erscheint die Verarbeitung von Sprottenköpfen in Lebensmittelzusatzstoffe für die Region besonders vielversprechend.

Das Vorhandensein von Räucherkomponenten in Sprottenköpfen wirkt sich auf die zuvor verwendeten Hydrolyseregulungen aus, da sie Enzyme hemmen, Proteine widerstandsfähiger gegen hohe Temperaturen machen usw.), was eine Anpassung der Regime erfordert.

Es wurden mehr als 30 Tests mit geräucherten Sprottenköpfen gemacht und neue Produkte entwickelt. Dies ließ optimale Hydrolyseprodukte zur Lebensmittelmusterproduktion bekommen. In Abbildung 23 sind die ersten Muster dargestellt: Proteinhydrolysat für Wurst, Fischöl-Raucharoma, Snacks, Proteinsaucen, Fischsuppenpulver, Fischkonserven mit Raucharoma, Sprottenpastete mit 5 % von protein-mineralischen Produkten.



Abbildung 23: Lebensmittelmuster mit Hydrolyseprodukten aus Sprotten der Fischfabrik Sa Rodinu

Diese Muster wurden in einer engen Zusammenarbeit mit der Fischfabrik Sa Rodinu, Dorf Wsmorje, Kaliningrader Gebiet entwickelt und produziert. Fischfabrik Sa Rodinu generiert den

größten Anteil von Sprottenebenprodukten in der Region zwar ca. 6 Tonnen pro Tag. Momentan werden diese Mengen gar nicht verwertet. Fischfabrik Sa Rodinu ist interessiert in Entwicklung des Projektes und Schaffung einer modernen Verwertungsanlage. In Abbildung 24 ist ein Arbeitstreffen mit dem Projektteam der Fischfabrik Sa Rodinu gezeigt.



Abbildung 24: Arbeitstreffen Biotech/KSTU mit Fischfabrik Sa Rodinu

In diesem Jahr das Projekt war Sieger beim Kaliningrader Projektwettbewerb als das beste technologische Projekt. In Abbildung 25 ist das Projektteam und Vorsitzender der Fischfabrik Sa Rodinu dargestellt. Mit der Fischfabrik Sa Rodinu wurde eine Kooperationsvereinbarung abgeschlossen und die Schaffung einer Hydrolyseanlage vorgesehen.



Abbildung 25: Projektteam und Vorsitzender der Fischfabrik Sa Rodinu - Sieg beim Projektwettbewerb

Basierend auf den In Berlin bei ANiMOX erarbeiteten und ins Kompetenzzentrum übertragene Entwicklungs- und Untersuchungsergebnissen (AP 8) zur Ableitung eines Anlagenkonzeptes konnte bei den Treffen und in Abstimmung per Mail eine Planung erarbeitet werden, die durch Biotech bereits erfolgreich bei einem Wettbewerb zur Umsetzung eingebracht wurde. Das Schema ist in Abbildung 26 und in Anlage 8 dargestellt.

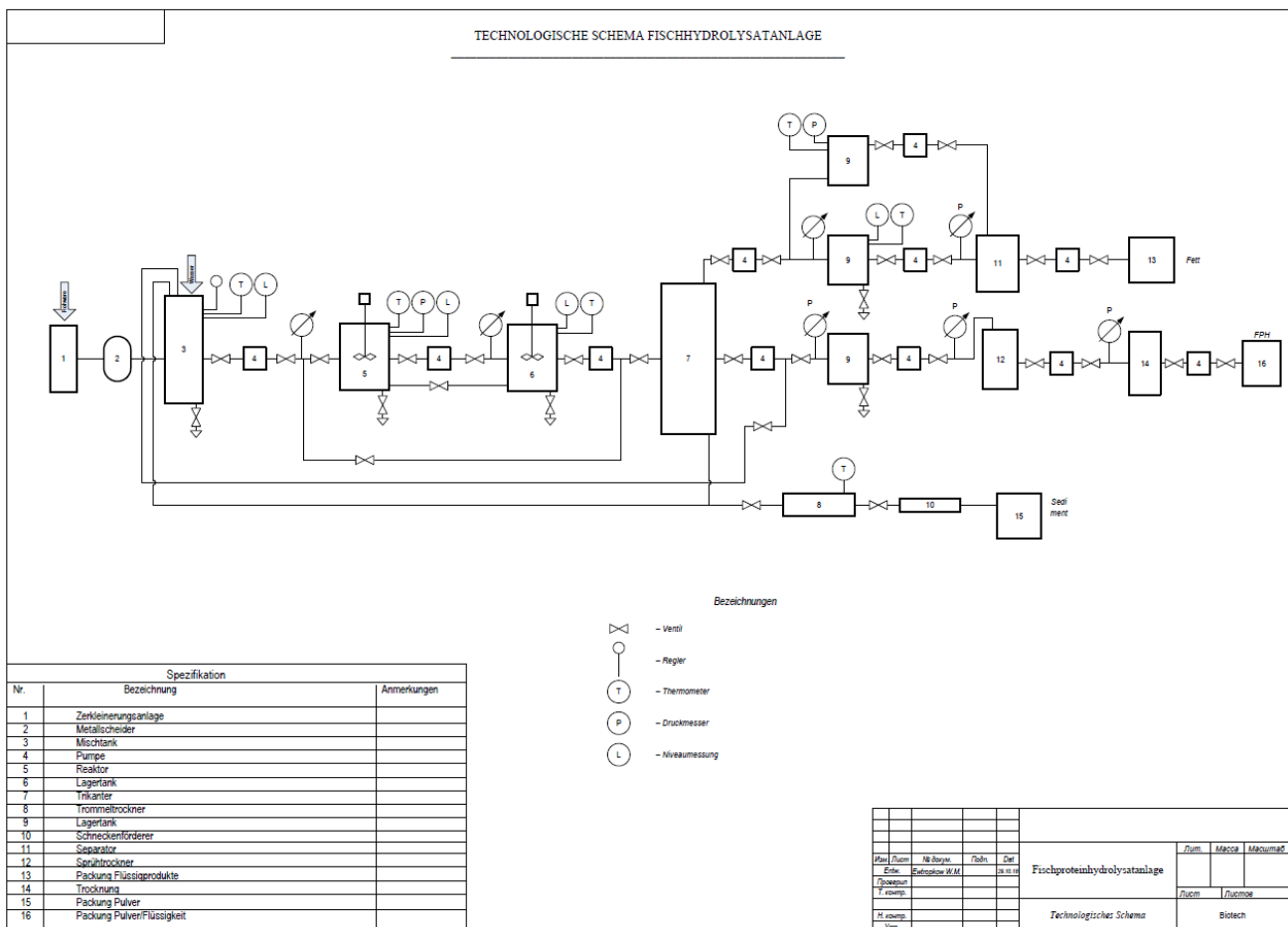


Abbildung 26: Anlagenkonzept

Auf Basis dieser Ergebnisse und der Arbeiten im Kompetenzzentrum mit der Fischfabrik Sa Rodinu, soll eine erste Modellanlage errichtet werden, die dann auf andere Materialien und Abläufe übertragen werden kann. Der Bau und Betrieb von erfolgreich funktionierenden Hydrolyseanlagen ist für die nächste Entwicklungsetappe sehr wichtig. Das im Rahmen des DBU-Projektes entwickelte Grundkonzept der Hydrolyseanlage, soll als modularer Prototyp an konkrete Projekte angepasst werden.

Eine große Fischabfallverwertungsfabrik, Bioindustrie aus Kemerowo Region (Sibirien), ist interessiert an der Technologieentwicklung zur Verwertung des Fischpresswassers. Das Presswasser entsteht in großen Mengen bei der Fischmehlproduktion (ähnlich wie Rohwarenmenge, in diesem Fall ca. 10-20 Tonnen pro Tag). In Abbildung 27 ist das Presswasser dargestellt. Dieses Nebenprodukt ist gelatineartig und wurde bis jetzt nicht verwertet wegen Problemen bei der Trocknung. Mit Bioindustrie wurde eine Kooperationsvereinbarung abgeschlossen. Im Kompetenzzentrum wurden erste Untersuchungen mit diesem Material durchgeführt. Im Presswasser liegt der Trockensubstanzwert bei 12 % und der Proteingehalt bei 8,9 % von der Gesamtmasse, was relativ gut ist. Wir haben eine erste thermische Hydrolyse bei 130 °C, 60 min durchgeführt und ein erstes positives Ergebnis bekommen. Proteinhydrolysatausbeute von Gesamtmasse Rohware lag bei 11 % mit Proteingehalt von 76,53 % (viel Salz, da Rohware gesalzter Fisch). In Abbildung 27 ist das Proteinhydrolysat dargestellt.



Abbildung 27: Presswasser aus der Fischmehlproduktion (links) und Fischproteinhydrolysat aus Presswasser aus der Fischmehlproduktion (rechts)

Eine lettische Firma Baltic Biotech ist in Entwicklung von enzymatischen Hydrolysetechnologien für Ihre Anlage interessiert. Es wurden schon mehrere Versuche mit unterschiedlichen kommerziellen Enzymen und Sprossen bei ANiMOX erfolgreich durchgeführt.

Momentan läuft Musterproduktion in Kilomengen mit einem optimierten Verfahren. Gemeinsam wurde die Inbetriebnahme einer Anlage zur enzymatischen Hydrolyse beim Arbeitstreffen mit den Gründern von Baltic Biotech diskutiert. Somit wird erwartet, daß mehr und mehr ökologisch sinnvolle Verwertungsansätze durch das Kompetenzzentrum in die baltische Region übertragen werden können.

Außerdem gibt es im Bereich Fischabfallverwertung Interessanten und Anfragen aus Kamtschatka (Osernowskij Fischfabrik 55 und Lenin Fischkolchose), der Moskauer und Rjasan Region. Das Kirow Biotech Cluster ist an einer Kooperation im Bereich Verwertung von Fleischnebenprodukten interessiert. Der Abschluss einer Kooperationsvereinbarung und Entwicklung des Projektkonzeptes ist beabsichtigt. Es gibt auch Anfragen aus Kasachstan und Usbekistan zur Verwertung von Fleischnebenprodukten.

Für die Technologie zur Verwertung von Fischabfällen anhand der Hydrolyse wurde in diesem Jahr gemeinsam ein Patent in Russland angemeldet und bestätigt (Anlage 6).

3.10 Öffentlichkeitsarbeit, Veröffentlichungen, Vorträge

Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften und Vorträge bei Konferenzen

1. Untersuchung verschiedener Methoden der Hydrolyse von Nebenprodukten aus Pazifischen Salmoniden am Beispiel der Rotlachsköpfe (*Oncorhynchus nerka*)
Fachzeitschrift *Iswestia KSTU*, 2017, Nr. 45. – S. 136-146.
2. Kombinierte Technologie zur tiefen Verwertung kollagenhaltiger Fischabfälle von Lachsarten am Beispiel von Rotlachsköpfen. Konferenz 5. Baltisches Maritimes Forum. Vortrag und Artikel. Kaliningrad, Russland 21.-27. Mai 2017
3. Innovative Technologien für die komplexe Verarbeitung von Fischabfällen und Perspektive für die Verwendung der daraus resultierenden Protein- und Fettprodukte. Publikation und Vortrag bei der 9. Internationalen Fachkonferenz „Produktion von Fischprodukten: Probleme, neue Technologien, Qualität“ (Swetlogorsk, Russland 5. – 8. September 2017).
4. Bewertung des Potenzials von sekundären proteinhaltigen Rohstoffen in den Betrieben des Kaliningrader Gebiets und Russlands. Bulletin für Bildung und Wissenschaft im Nordwesten Russlands Zeitschrift, 2017. – Band 3. – Nr. 4. <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2017/12/2017-N4-Mezenova.pdf>
5. Zur Frage der Gewinnung von proteolytischen Enzymen aus den Verdauungsorganen von Fischen (Baltischer Hering). Publikation und Vortrag bei der 9. Internationalen Fachkonferenz „Produktion von Fischprodukten: Probleme, neue Technologien, Qualität“ (Swetlogorsk, Russland 5. – 8. September 2017).
6. Innovative Herstellung von Proteinen aus proteinhaltigen biologischen Rohstoffen. Bulletin für Bildung und Wissenschaft im Nordwesten Russlands Zeitschrift, 2017. – Band 3. – Nr. 2. <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2017/08/2017-N2-Hoehling-Mezenova.pdf>
7. Untersuchung der Aktivität proteolytischer Enzyme der Verdauungsorgane des Ostseeherings. Konferenz „Tage der Wissenschaft“; Kaliningrad, Russland 10.-21. April 2017.
8. Kombinierte Technologie der tiefen Verwertung kollagenhaltiger Fischabfälle von Lachsarten am Beispiel der Rotlachsköpfe. Konferenz 5. Baltisches Maritimes Forum. Vortrag und Artikel. Kaliningrad, Russland 21.-27. Mai 2017
9. Entwicklung einer industriellen Technologie für tiefe Verwertung von Fischabfällen. Konferenz 5. Baltisches Maritimes Forum. Vortrag und Artikel. Kaliningrad, Russland 21.-27. Mai 2017
10. Analyse der Nutzung sekundärer proteinhaltiger Rohstoffe für die Nahrungsmittelproduktion in der Region Kaliningrad und in einigen Regionen Russlands. 22. Dezember 2017, Wladiwostok, Russland
11. Mezenova O.Ya., Volkov V.V., Moersel T., Grimm T., Kuehn S., Hoehling A., Mezenova N.Yu. A comparative assessment of hydrolysis methods used to obtain fish collagen peptides and investigation of their amino acid balance. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2018, vol. 8, no. 4, pp. 83–94. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94
Mezenova O. Ya., Volkov V. V., Moersel T., Hoehling A., Grimm T., Mezenova N. Yu. Comparative assessment of hydrolysis methods for production of protein products from collagen-containing fish raw material and evaluation of their quality. *Fachzeitschrift Iswestia KSTU*, 2017, Nr. 49. – S. 126-144.

12. Baidalinova L.S., Bazhenov E.A., Study of the activity of proteolytic enzymes from the digestive organs of freshwater fish. Bulletin für Bildung und Wissenschaft im Nordwesten Russlands Zeitschrift, 2017. – Band 4. – Nr. 3. <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2018/08/2018-N3-BaidalinovaBazhenov.pdf>
13. Baidalinova L.S. Assessment of the degree of hydrolysis of proteins secondary fish raw materials with enzymatic and hydrothermal treatment. Bulletin für Bildung und Wissenschaft im Nordwesten Russlands Zeitschrift, 2017. – Band 4. – Nr. 2. <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2018/05/2018-N2-Baydalinova.pdf>
14. Ermittlung und Bewertung der Qualität von Proteinen und Fetten aus den Sekundärfischrohstoffen der Region Kaliningrad / O.Ya. Mezenova, L.S. Baydalinova, V.V. Volkov // V Internationale wissenschaftliche und technische Konferenz "Aktuelle Probleme der Entwicklung der biologischen Ressourcen der Ozeane" (22.-24. Mai 2018): Materialien. - Vladivostok: Dalrybvtuz, 2018. - Teil 2. - S. 77-82.
15. Process and product development, scale-up and implementation of applications for the use of by-products. Konferenz 6. Baltisches Maritimes Forum. Vortrag und Artikel. Kaliningrad, Russland 4. September 2018
16. Mezenova, O.Ya. Untersuchung verschiedener Methoden zur Hydrolyse von Sekundärfischrohstoffen nach Erhalt von Lebensmittelzusatzstoffen / O.Ya. Mezenova, L.S. Bayalinoва, L.V. Gorodnichenko, V.V. Volkov N.Yu. Mezenova // I Nationale wissenschaftlich-praktische Konferenz "Lebensmitteltechnologie: Forschung, Innovation, Marketing" (1.-3. Oktober 2018): Materialien. - Kertsch: FSBEI HE "KGMTU", 2018. - S. 56-59.

Tabelle 14: Media Beiträge Russland

Nr.	Name	Link
Video		
1	«Agronomika», Verwertung von Proteinhaltigen Abfällen (Min 06:43-08:14)	https://www.youtube.com/watch?v=-kShAQ7PIEQ
2	Kaliningrader TV KASKAD über neue Technologien zur Verwertung von Proteinhaltigen Abfällen	https://www.youtube.com/watch?v=ge_bxA5mnSc
3	Kaliningrader TV KASKAD Perspektive - über neue Technologien zur Verwertung von Proteinhaltigen Abfällen (Min 05:30-09:26)	https://www.youtube.com/watch?v=MuoT-lhXZWoM
4	Videoclip übers Kompetenzzentrum	https://www.youtube.com/watch?v=jH3oPU2FRqW
5	TV Program Protagonist vom 05.03.2019	https://www.youtube.com/watch?v=UA87firBghY
6	Promo-Videoclip übers Kompetenzzentrum	https://www.youtube.com/watch?v=vU8n8pXuaNI
Texte und andere		
5	Startups in Agrobusiness	http://mirbelogorya.ru/content-video/23388-investitsii-v-innovatsii-startapy-v-agrobiznese.html
6	Über neue Technologien zur Verwertung von Proteinhaltigen Abfällen	http://planet-today.ru/novosti/nauka/item/61651-uchenye-iz-kaliningrada-razrabotali-tehnologiyu-pererabotki-biologicheskikh-otkhodov-v-tsennyj-belok

7	Über neue Technologien zur Verwertung von Proteinhaltigen Abfällen	https://agrovesti.net/news/indst/protech-tekhnologiya-glubokoj-pererabotki-biologicheskikh-otkhodov-zhivotnogo-proiskhozhdeniya.html
9	Eröffnung des Kompetenzzentrums	http://klgtu.ru/press/news/15684/
10	Funkprogramm "Komsomolskaja prawda - Kaliningrad" Info über Kompetenzzentrum	https://www.kaliningrad.kp.ru/radio/26756.7/3785915/
12	Info über Kompetenzzentrum	http://tsuren.ru/news/%D1%86%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%80-%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D1%85-%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D0%B9-%D0%B8%D1%81%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D0%B7%D0%BE/
13	Über neue Technologien zur Verwertung von Proteinhaltigen Abfällen	http://generation-startup.ru/news/stories/42880/
14	Unser Projekt ProFiShip ist einer der besten bei GenerationS	http://fasie.ru/press/fund/nazvany-luchshie-tekhnologicheskije-startapy-akseleratora-generations/
15	Unser Projekt ProFiShip ist einer der besten bei GenerationS	https://marinet.org/ru/the-finalists-of-the-generations-in-the-marinet-nomination/#more-620
16	Kompetenzzentrum beim Street Food Weekend 2018	http://www.klgtu.ru/press/news/18258/
17	Kompetenzzentrum beim Street Food Weekend 2018	http://kaliningrad.bezformata.com/listnews/polyane-street-food-weekend/69225064/
18	Artikel übers Kompetenzzentrum	https://strana39.ru/news/obuchenie/92437/poleznoe-vtorsyre-v-delo-poshlacheshuya-.html
19	13 russische CleanTech-Startups	https://strana39.ru/news/obuchenie/92437/poleznoe-vtorsyre-v-delo-poshlacheshuya-.html
20	Online Kurs Hydrolyse von Fischnebenprodukten	http://skvot.2035.university/page4351043.html

3.11 Fazit und Ausblick

Durch die in den Arbeitspaketen von ANiMOX und im Abschnitt 3 dargestellten Ergebnisse von Biotech/KSTU zeigt sich, daß der notwendige Aufbau der Techniken zur Entwicklung von Mustern für Lebensmittel erfolgreich im Kompetenzzentrum in Kaliningrad umgesetzt werden konnte. In diesem Arbeitspaket wurden die Versuche zur Übertragung der Abläufe der Firma ANiMOX weitergeführt und vor allem der Versuchsautoklav in die Prozesse integriert. Somit sind nun vergleichbare Arbeiten im Kaliningrader Oblast und mit anderen russischen Firmen möglich. Das ist vor allem wichtig um die ökologisch und ökonomisch sinnvolle Verwertung der anfallenden Reststoffströme im Kaliningrader Raum als Modellregion und eine Übertragung auf alle fisch- und fleischverarbeitenden Betriebe zu ermöglichen. Da das Material nur sehr schwer in die EU gebracht werden kann, ist hier nun eine Testung und die Erarbeitung von Entwicklungsschritten möglich. Die Ausstrahlung der Ergebnisse in den baltischen Raum führt auch zu neuen Kooperationen für die Firma ANiMOX.

Durch den Transfer von ANiMOX-Technologien und Schaffung des Kompetenzzentrums wurden die Grundprozesse einer umweltfreundlichen Technologie für die Verwertung von proteinhaltigen Abfällen in der Region Kaliningrad der Russischen Föderation entwickelt. Folgende Ergebnisse wurden bis Februar 2019 erreicht:

1. Studie zur Akkumulierung und Verwendung von Fischabfällen in Russland und der Region Kaliningrad wurde durchgeführt. Die Artenzusammensetzung und Qualität der Fischabfälle in Fischverarbeitungsbetrieben der Region Kaliningrad wurde untersucht. Eine Datenbank über Fischabfälle in Kaliningrader Region wurde geschaffen.
2. Zusammen mit ANiMOX und KSTU wurde Kompetenzzentrum für nachhaltige Proteinnutzung in Kaliningrad geschaffen.
3. Untersuchungen zu den chemischen Zusammensetzungen der Fischabfälle wurden durchgeführt.
4. Zielparameter für Produkte wurden bestimmt.
5. Spezifische Proteasen aus Fischinnereien wurden produziert und mit anderen nicht kommerziellen vorhandenen proteolytischen Enzymen getestet.
6. Erste 21 Hydrolyseversuche mit Fischabfällen im Kompetenzzentrum wurden durchgeführt.
7. Methoden zur Verbesserung von Eigenschaften von Produkten wurden untersucht und teilweise getestet.

8. Erste Tests zur Verwendung von Proteinhydrolysaten in Lebensmittelprodukten (Snacks, Kuchen, Brot, Marmelade usw.) wurden durchgeführt.
9. Ein Hydrolysator 5 L, bis auf 200 C°, 16 bar, Rührwerk 100 U/Min wurde speziell fürs Kompetenzzentrum entwickelt und produziert.
10. Eine Kooperation und Wissenstransfer von ANiMOX in das neue Kompetenzzentrum für nachhaltige Proteinnutzung in Kaliningrad findet statt.
11. Mehr als 80 Hydrolyseversuchen und ihre Analyse wurden im Kompetenzzentrum mit unterschiedlichen Materialien bei verschiedenen Verfahren erfolgreich durchgeführt
12. Hydrolyseprodukte wurden erfolgreich in ersten Muster-Lebensmittelerzeugnissen industriell mit Fischfabrik Sa Rodinu verwendet.
13. Erste drei Projektpartner für Technologieentwicklung wurden gefunden: Fischfabrik Sa Rodinu, Kaliningrad, Russland; Fischmehlproduzent Bioindustrie, Kemerowo, Russland; Baltic Biotech, Lettland.
14. Ein Grundkonzept für Fischproteinhydrolyseanlage wurde entwickelt.
15. Ein Patent für die Fischproteinhydrolyse wurde angemeldet.

4 Literatur

1. Cieřlik E., Gębusia A., Florkiewicz A., The content of protein and of amino acids in jerusa-lem artichoke tubers (*Helianthus Tuberosus* L.) of red variety rote Zonenkugel/E. Cieřlik, // ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria-2011.-№10.-p.433-441
2. Derkach S.R., Grokhovsky V.A., Kuranova L.K., and Volchenko V.I. Nutrient Analysis of Underutilized Fish Species for the Production of Protein Food. *Foods and Raw Materials*, 2017, vol. 5, pp. 15–23 . DOI: 10.21603/2308-4057-2017-2-15-23
3. Ghaly A.E., Ramakrishnan V.V., and Brooks M.S. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 2013, vol. 5, no. 4, pp. 107–129. DOI: 10.4172/1948-5948.1000110
4. Ghaly A.E., Ramakrishnan V.V., and Brooks M.S. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 2013, vol. 5, no. 4, pp. 107–129. DOI: 10.4172/1948-5948.1000110
5. Gustafson R.G., Wainwright T.C., Winans G.A., et al Status review of sockeye salmon from Washington and Oregon, 1997, 304 p.
6. Hoehling A., Grimm T., Volkov V., Mezenova N. Hydrolysis process of fish cannery by-products. *Vestnik Mezhdunarodnoi Akademii Kholoda*, 2016, no.1, pp. 3–8 . DOI: 10.21047/1606-4313-2016-16-1-3-8, (In Russ.).
7. Hoehling A., Volkov V. Proteins from by-products – innovative components in sustainable industrial production, *Izvestiya KGTU*, 2015, no. 39, pp. 83–92, (In Russ.).
8. Kalenik T., Kravchenko M., Grishchenko V., et al Enriched Protein Products of Marine Origin. New Components of the Diet for People with Physcal Load. *Foods and Raw Materials*, 2013, vol. 1, pp. 82–87 . DOI: 10.1109/ICCASE.2011.5997833

9. Linder, M. Proteolytic extraction of salmon oil and PUFA concentration by lipases / M. Linder, J. Fanni, M. Parmentier // *Marine Biotechnology*. – 2005. – Vol. 7 (1). – P. 70-76.
10. *Marine Proteins and Peptides. Biological activities and applications* / edited by S.K. Kim. – John Wiley and Sons, 2013. – 785 p.
11. Mbatia B. [et al.] / Enzymatic oil extraction and positional analysis of ω -3 fatty acids in Nile perch and salmon heads // *Process Biochemistry*. – 2010. – Vol. 45 (5). – P. 815-819.
12. Nishida C., Uauy R., Kumanyika S., Shetty P. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutrition*. 2004, vol. 7, pp. 245–250. DOI: 10.1079/PHN2003592
13. Pasupuleti V.K., Demain A.L. State of the Art Manufacturing of Protein Hydrolysates. In: *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 2010, New York: Springer, pp. 11–32
14. Ramakrishnan [et al.] V.V, Extraction of oil from mackerel fish processing waste using alcalase enzyme // *Enzyme Engineering*. – 2013. – Vol. 2 (2). – P. 115-125.
15. Simakova I.V., Giro T.M., and Vasilyev A.A. Ensuring the safety of the lipid fraction of semi-finished products of a high degree of preparation from fatty fish raw materials. *Foods and Raw Materials*, 2018, vol. 6, no. 2, pp. 449–456 . DOI: <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-449-456>.
16. Simopoulos, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases / A.P. Simopoulos // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 2006. – Vol. 60. – P. 502-507.
17. Slizyte R., Rommi K., Mozuraityte R., et al. Bioactivities of fish protein hydrolysates from defatted salmon backbones. *Biotechnology Reports*, 2016, no. 11, pp. 99-109 . DOI: 10.1016/j.btre.2016.08.003

18. Slizyte R., Rommi K., Mozuraityte R., et al. Bioactivities of fish protein hydrolysates from defatted salmon backbones. *Biotechnology Reports*, 2016, no. 11, pp. 99-109 . DOI: 10.1016/j.btre.2016.08.003
19. Volkov V., Grimm T., Lange T., et al. Study of Different Hydrolysis Methods of Pacific Salmon By-Products Using Sockeye (*Oncorhynchus Nerka*) Heads As an Example. *Izvestiya KGTU*, 2017, no. 45, pp. 136–146. (In Russ.)

5 Anhang

Anlage 1: Kompetenzzentrum nach Einrichtung (6 Bilder oben)



Anlage 2: Chemische Zusammensetzung von Fisch und Fleischnebenprodukten

Datum/Ort	Bezeichnung	g pro 100 g Material					g pro 100 g Trockensubstanz (TS)			
		Wasser	Fett	Protein	Asche	TS	TS	Fett	Protein	Asche
17.07.2017 «Kaliningrader Konservenfabrik»	Makrele – Köpfe und Schwänze (Mit- telwert aus 2 Proben)	56,38	24,95	14,57 (Differen- zwerte)	4,09	43,62	100	57,67	33,40 Differenz werte	9,38
12.12.2017 «RosKon»	Makrele – Köpfe und Schwänze (Mit- telwert aus 2 Proben)	70,48	9,54	10,24	4,85	29,52	100	32,33	34,69	16,43
17.07.2017 «Kaliningrader Konservenfabrik»	Makrele Inne- reien (Mittel- wert aus 2 Pro- ben)	70,04	12,13	16,43 (Differen- zwerte)	1,24	29,96	100	40,49	54,80 (Differenz werte) 48,50 Kjeldahlw erte	4,14
18.07.2017 «Oktopus»	Blauer Wittling gesalzt – Köpfe und Schwänze (Mittelwert aus 2 Proben)	72,93	3,69	14,86 (Differen- zwerte) 13,63 Kjeldahl werte, inkl. Kollagen 2,6	8,52	27,07	100	13,63	54,89 Differenz werte 48,50 Kjeldahlw erte, inkl. Kollagen 9,60	31,47. Salz 14,04
18.07.2017 «Oktopus»	Blauer Wittling gesalzt – Inne- reien (Mittel- wert aus 2 Pro- ben)	53,20	32,74	10,60 (Differen- zwerte) 6,0 Kjeldahl werte	3,46	46,8	100	69,96	22,65 (Differenz werte) 12,82 Kjeldahlw erte	7,40. Соленос- ть 6,09
21.09.2017 Fischkolchose «Sa Rodinu»	Sprotten Köpfe geräuchert (Mittelwert aus 2 Proben)	55,64	20,31	18,27 (Differen- zwerte) 16,65 Kjeldahl werte	5,78, inkl. Salz 1,82	44,36	100	45,78	41,19 (Differenz werte) 37,53 Kjeldahlw erte	13,03, inkl. Salz 4,10

12.12.2017 «RosKon»	Baltische Sprotten Köpfe geräuchert	61,08	15,79	18,11	5,07	38,92	100	40,55	46,53	13,02
05.07.2017 «Almak»	Schweinerippe n (Mittelwert aus 2 Proben)	63,55	17,26	18,24 Differenz werte, 20,51 Kjeldahl werte	0,95	36,45	100	47,35	50,04 Differenz werte, 56,27 Kjeldahlw erte	2,6
05.07.2017 «Almak»	Schweinehaut (Mittelwert aus 2 Proben)	49,02	21,58	29,13 Differenz werte, 31,03 Kjeldahl werte	0,51	50,98	100	42,33	57,14 Differenz werte, 60,86 Kjeldahlw erte	1,00
05.07.2017 «Almak»	Schweinfleisch geräuchert – Retouren aus Geschäften (Mittelwert aus 2 Proben)	51,37	25,57	20,03 Differenz werte, 21,17 Kjeldahl werte	3,03	48,63	100	52,58	41,18 Differenz werte,43,5 2 Kjeldahlw erte	6,23
05.07.2017 «Almak»	Technische Reste (Tier- arztstempel, Reste aus Gerä- ten usw.) (Mittelwert aus 2 Proben)	57,99	28,82	12,54 Differenz werte, 15,29 Kjeldahl werte	0,65	42,01	100	68,60	29,85, 36,39 Kjeldahlw erte	1,54
05.07.2017 «Almak»	Knochen mit Fleischresten (Mittelwert aus 4 Proben)	37,88	21,16	20,14 Differenz werte, 16,35 Kjeldahl werte inkl. Kollagen 7,74	20,82	62,12	100	33,51	32,42 Differenz werte, 26,32 Kjeldahlw erte	33,51
12.12.2017 «RosKon»	Sardinella Aurita Schuppen (sauber)	64,93	0,026	20,15	14,67	35,07	100	32,33	34,69	16,43
12.12.2017 «RosKon»	Sardinella Aurita Gräten	65,33	NA	19,0	3,25	34,67	100	NA	54,80	9,37

12.12.2017	Sardinella «RosKon» Aurita Seitenflosse	63,0	NA	19,44	5,06	37,0	100	NA	52,54	13,67
30.11.2018	Sa Rodinu Baltische Sprotten Köpfe geräuchert	55,68	18,82	20,00	5,50	44,32	100	42,46	45,13	12,41
05.02.2019	Sa Rodinu Baltische Sprotten Köpfe geräuchert	63,79	13,79	17,64	4,78	36,21	100	38,08	48,72	13,20

Anlage 3: Zusammenfassung der Ergebnisse enzymatischer und thermischer Hydrolyseversuche von Fischabfällen

Nr	Datum	Rohstoffe	Gerwicht, g	Wasser, g	Enzym, g	Hydrolysat (flüssiger Überstand), g	Sediment, g	Fett			
11	18.12.2017	Sardinella Aurita Schuppen	150	150	Alcalase 2.4 L 0,75 g	192,86	92,8	-			
			Gewicht, g	TS	Protein		Fett		Asche		
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Rohware		35,07	63,13	20,15	36,27	0,026	0,047	14,67	26,41
		Überstand	192,86	6,3	12,15	3,99	7,69	0,37	0,71	0,13	0,25
		Sediment	92,8	45,22	41,96	15,39	14,28	1,36	1,26	23,48	21,48
Fett	0	100									
12	18.12.2017	Sardinella Aurita Schuppen	150	150	Alcalase 2.4 L 0,375 g	187,52	91,22	0			
			Gewicht, g	TS	Protein		Fett		Asche		
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	187,52	5,37	10,07	5,23	9,81	0,12	0,225	0	0
		Sediment	91,22	51,03	46,54	23,22	21,18	0,21	0,19	26,76	24,4
Fett	0	100	0								

13	22.12.2017	Sprossen Köpfe geräuchert		150 g	150 g	Alcalase 2.4 L 0,75 g	148,74	120,12	10,6 3		
			Gewic ht,g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	148,74	11,2	16,66	2,55	3,79	4,09	6,08		
		Sediment	120,12	26,0	31,23	13,6	16,34	4,84	5,81		
		Fett	10,63	100	10,63						
14	22.12.2017	Makrele Köpfe RosKon		150	150	Alcalase 2.4 L 0,75 g	230	27,8	25,3 8		
			Gewic ht,g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	230	8,46	19,45	9,5	21,85	0,82	1,89	0	0
		Sediment	27,8	36,74	10,21	13,38	3,72	12,82	3,56	14,76	4,10
		Fett	25,38	100	25,38						
15	22.12.2017	Makrele Köpfe RosKon		150	150	Alcalase 2.4 L 0,75 g	228	26,9	32,2 7		
			Gewic ht,g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	228	8,6	19,6	4,29	9,78	0,88	2,0	0,23	0,52
		Sediment	26,9	34,8	9,36	13,80	3,71	2,88	0,77	14,76	3,97
		Fett	32,27	100	32,27						
16	22.12.2017	Makrele Köpfe RosKon		150	150	Neutrase 0,75 g	178,0	88,1	11,5		
			Gewic ht,g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	178	6,87	12,22	2,49	4,43	0,18	0,32	0,29	0,52
		Sediment	88,1	31,15	27,44	14,78	13,02	12,71	11,1 9	4,30	3,79

		Fett	11,5	100	11,5						
17	22.12.2017	Makrele Köpfe RosKon		150	150	Protamex 0,75 g	199	82,8	12,0		
		Enz. Hydrolyse 6 Std ohne therm. Hydrolyse	Gewicht, g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	199	7,66	15,24	2,75	5,47	0,34	0,67	0,32	0,64
		Sediment	82,8	34,5	28,57	11,21	9,28	15,14	12,53	8,05	6,66
		Fett	12,0	100	12,0						
18		Makrele Köpfe RosKon		150	150	Alcalase 2.4 L 0,75 g	224,5	56,1	7,0		
		Enz. Hydrolyse 6 Std + therm. Hydrolyse 1,5 Std.	Gewicht, g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	224,5	8,45	18,97	3,75	8,42			0,09	0,2
		Sediment	56,1	30,72	17,23	10,81	6,06			11,21	6,29
		Fett	7,0	100	7,0						
19	22.12.2017	Makrele Köpfe RosKon		150	150	Protamex 0,75 g	221,5	69,3	4,0		
		Enz. Hydrolyse 6 Std + therm. Hydrolyse 1,5 Std.	Gewicht, g	TS		Protein		Fett		Asche	
				%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	221,5	8,48	18,78	4,0	8,86			0,63	1,39
		Sediment	69,3	30,72	21,29	10,41	7,21			5,83	4,04
		Fett	0	100	0						
20		Makrele Köpfe RosKon		150	150	Ohne Enzym	171,4	122,9	2,3		
		Thermische Hydrolyse 1,5 Std. Hochheizen auf 115 °C,	Gewicht, g	TS		Protein		Fett		Asche	

		1,5 Std Verweilzeit bei 115 °C								
			%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	171,4	8,54	14,63	0,88	1,51	3,11	3,33	0
		Sediment	122,9	27,5	33,79	12,96	15,92	9,45	11,6	3,16
		Fett	2,3	100	2,3					
21		Makrele Köpfe RosKon		150	150	Ohne Enzyme	169,3	122,4	2,3	
		Thermische Hydrolyse 1,5 Std. Hochheizen auf 115 °C, 1,5 Std Verweilzeit bei 115 °C	Gewicht, g	TS		Protein		Fett		Asche
			%	g	%	g	%	g	%	g
		Überstand	169,3	6,84	11,58	1,42	2,40	6,84	11,5	0,2
		Sediment	122,4	26,63	32,59	11,71	14,33	9,35	11,4	3,58
		Fett	2,3	100	2,3					

Anlage 4: Hydrolysegrad des Proteins nach Aminstickstoffgehalt in flüssigen Proteinhydrolysaten aus Fischabfällen bei unterschiedlichen Hydrolyseverfahren

Nr	Datum	Bezeichnung	Aminstickstoff, mg%	
		Rohware	Makrele Köpfe «Kaliningrader Konservenfabrik»	42,1
1	30.11.2017	Makrele Köpfe «Kaliningrader Konservenfabrik»+Wasser Autolyse 6 Std. Bei 50 °C	302,0	
2	30.11.2017	Makrele Köpfe «Kaliningrader Konservenfabrik»+Wasser+ Alcalase 2.4 L enz. Hydrolyse 6 Std. bei 50 °C	543,3	
3	30.11.2017	Makrele Köpfe «Kaliningrader Konservenfabrik»+Wasser+Minzeextrakt 3 g Autolyse 6 Std. Bei 50 °C	252,0	
4	30.11.2017	Makrele Köpfe «Kaliningrader Konservenfabrik»+Wasser+ Alcalase 2.4 L + Minzeextrakt 3 g enz. Hydrolyse 6 Std. Bei 50 °C	554,7	

5	01.12.2017	Makrele Köpfe + Schwänze «Kaliningrader Konservenfabrik» Autolyse 6 Std. Bei 50 °C	255,8
6	01.12.2017	Makrele Köpfe + Schwänze «Kaliningrader Konservenfabrik» + Alcalase 2.4 L Autolyse 6 Std. Bei 50 °C	572,7
7	01.12.2017	Makrele Köpfe + Schwänze «Kaliningrader Konservenfabrik» + Wasser + Minzeextrakt 3 g Autolyse 6 Std. Bei 50 °C	231,0
8.	01.12.2017	Makrele Köpfe + Schwänze «Kaliningrader Konservenfabrik» + Wasser + Minzeextrakt 3 g (konzentriert) Autolyse 6 Std. Bei 50 °C	404,1
9	07.12.2017	Makrelenköpfe Vorentfettung durch Erwärmung und Zentrifugierung, danach enz. Hydrolyse mit Alcalase 2.4 L 0,25% 6 Std. bei 50 °C	538,6
10	07.12.2017	Makrelenköpfe Vorentfettung durch Erwärmung und Zentrifugierung, danach enz. Hydrolyse mit Alcalase 2.4 L 0,25% 6 Std. bei 50 °C	193,1
11	18.12.2017	Sardinella Aurita Schuppen RosKon+Wasser+Alcalase 2.4 L + therm. Hydrolyse 1,5 Std bei 115 °C (1,5 Std Vorwärmung auf 115 °C)	208,9
13	18.12.2018	Sprotten Köpfe geräuchert RosKon + Wasser+Alcalase 2.4 L + therm. Hydrolyse 1,5 Std bei 115 °C (1,5 Std Vorwärmung auf 115 °C)	131,0
14	11.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+Alcalase 2.5 L 6 Std. Bei 50 °C	528,6
15	11.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+Alcalase 2.4 L 6 Std. Bei 50 °C	518,00
16	11.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+Neutrase 6 Std. Bei 50 °C	478,0
17	11.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+Neutrase 6 Std. Bei 50 °C	508,1
18	18.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+ Alcalase 2.4 L+ therm. Hydrolyse 1,5 Std bei 115 °C (1,5 Std Vorwärmung auf 115 °C)	661,7
19	18.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+ Protamex+ therm. Hydrolyse 1,5 Std bei 115 °C (1,5 Std Vorwärmung auf 115 °C)	605,1
20	18.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+ therm. Hydrolyse 1,5 Std bei 115 °C (1,5 Std Vorwärmung auf 115 °C)	235,6
21	18.01.2018	Makrele Köpfe RosKon + Wasser+ therm. Hydrolyse 1,5 Std bei 115 °C (1,5 Std Vorwärmung auf 115 °C) doppelt	250,4

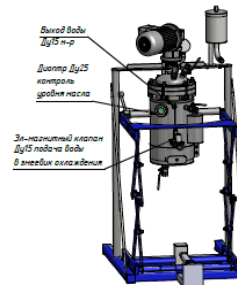
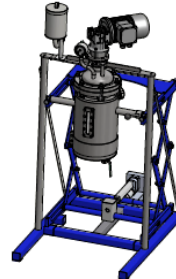
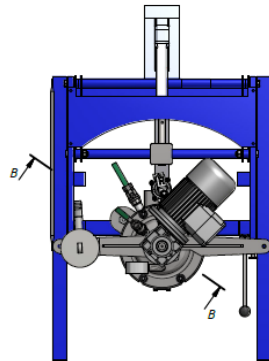
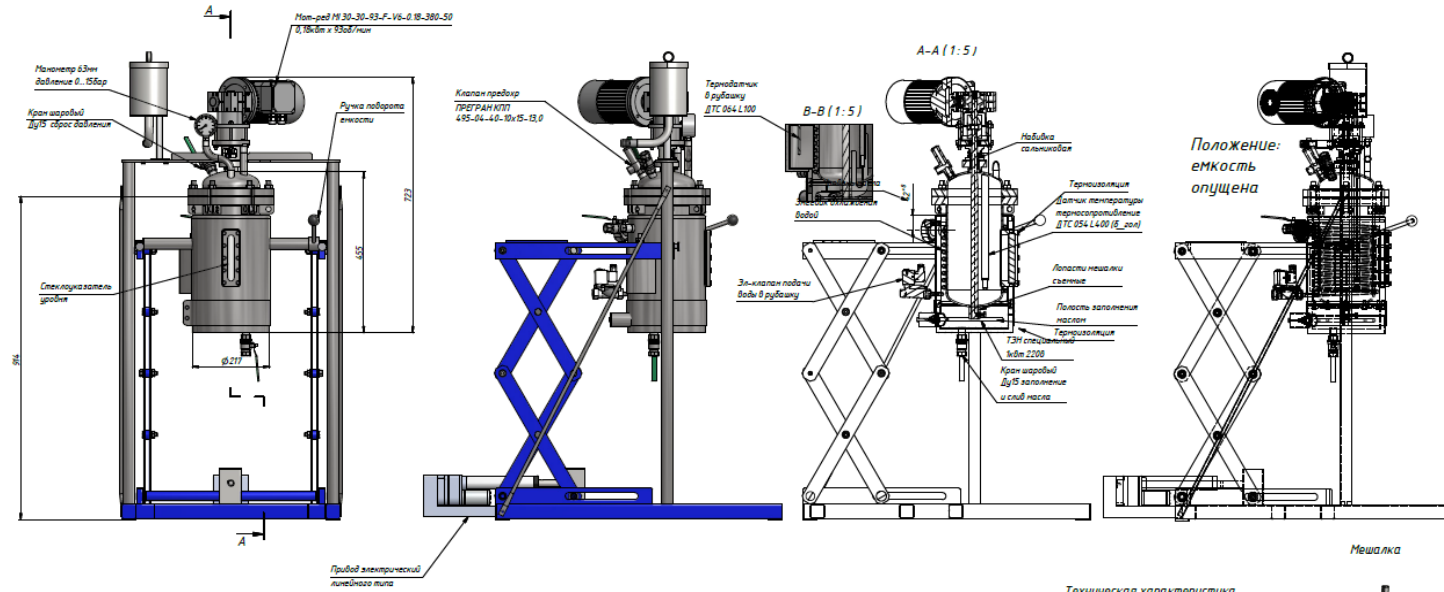
Anlage 5: Wissenschaftlich-technische Zusammenarbeit ANiMOX und Biotech/KSTU



Anlage 6: Patent Nr. 2681352 Verfahren zur Gewinnung von Lebensmittelkomponenten aus Fischnebenprodukten mithilfe der Hydrolyse



Анлаге 7 Hydrolysator 5 L, bis auf 200 C°, 16 bar, Rührwerk 100 U/Min entwickelt und produziert speziell fürs Kompetenzzentrum

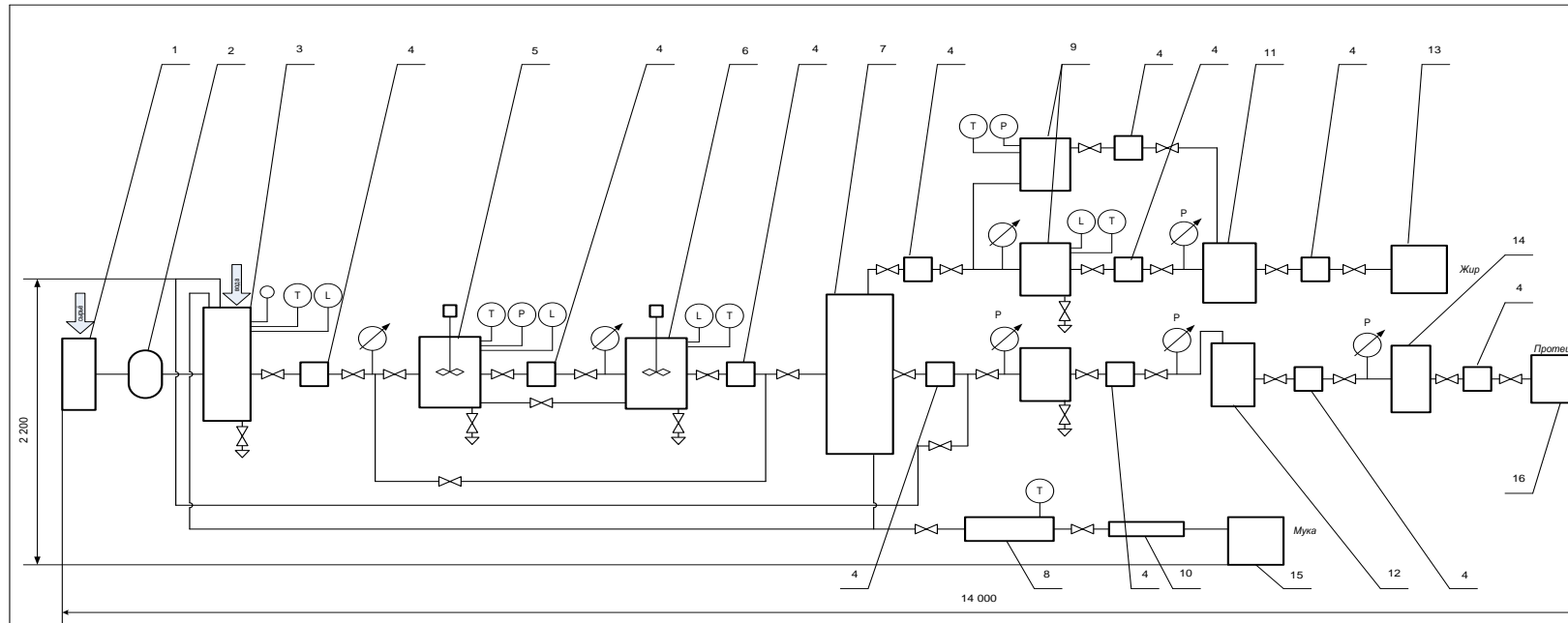


- Техническая характеристика**
1. Емкость сосуда – 5л
 2. Рабочая температура до 200град С
 3. Максимальное давление в сосуде – 13бар
 4. Мощность нагревателя масла – 1кВт
 5. Мощность привода мешалки – 0,18кВт
 6. Частота вращения мешалки до 93об/мин
 7. Габариты, мм 624x852x1633





Анlage 8 Grundkonzept der Hydrolyseanlage zur Verwertung von Fischabfällen



Условные обозначения

- вентиль, задвижка
- регулятор
- измерение температуры
- измерение давления
- измерение уровня
- манометр

СПЕЦИФИКАЦИЯ элементов технологической схемы			
№ поз.	Наименование элемента схемы	Кол.	Примечания
1	Измельчитель	1	
2	Металлоулавливатель	1	
3	Смесительный бак	1	
4	Насос	10	
5	Реактор	1	
6	Накопительный бак	1	
7	Тригатор	1	
8	Барабанная сушка	3	
9	Накопительный бак	1	
10	Шнековый транспортер	1	
11	Сепаратор	1	
12	Распылительная сушка	1	
13	Фасовочно-упаковочный автомат для жидких материалов	1	
14	Сушка	1	
15	Фасовочно-упаковочный автомат для сыпучих продуктов	1	
16	Фасовочно-упаковочный автомат для жидких материалов	1	

Имя	Лист	№ докум.	Подп.	Дата	Технологическая линия безотходного производства высокобелковых функциональных продуктов из вторичного рыбного сырья	Лит.	Масса	Масштаб
Разработ.	Проверил.	Евгеньков В. М.		29.10.19				
Т. контр.						Лист		Листов
Н. контр.					Чертеж общего вида	ООО «Биотех»		
Утв.								