

# Entwicklung eines Verfahrens zur selektiven Gewinnung von Alpha-Lactalbumin aus Molke oder Molkenproteinkonzentrat

Koordinierung: Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)

Forschungsstelle: Hochschule Anhalt (FH), Köthen

FB Angewandte Biowissenschaften und Prozesstechnik FG Lebensmittelverfahrenstechnik/Milchtechnologie

Prof. Dr. T. Kleinschmidt/Dr. G. Konrad

Industriegruppe: Milchindustrie-Verband e.V., Bonn

Projektkoordinator: Dipl.-Chem. H.-J. Denzler,

BIOLAC GmbH, Harbarnsen

Laufzeit: 2004 – 2007

**Zuwendungssumme**: € 234.500,--

(Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

In den letzten Jahren wurden einige Verfahren zur Isolierung von individuellen Molkenproteinfraktionen entwickelt. Die meisten dieser Methoden sind reine Laborverfahren und lassen sich technisch nicht wirtschaftlich umsetzen. Nachdem es der Arbeitsgruppe Kleinschmidt/Konrad gelungen ist, neue bzw. verbesserte Verfahren zur Isolierung von  $\beta$ -Lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) und von Caseinmakropeptid zu entwickeln, sollten die gewonnenen Erfahrungen genutzt werden, um ein neues Verfahren für die Gewinnung von α-Lactalbumin (α-La) zu etablieren, das umweltfreundlich und nahezu abproduktfrei arbeitet. Die Einsatzmöglichkeiten von α-La bestehen in Säuglings- und Formelnahrungen, im diätetischen und pharmazeutischen Bereich sowie als funktionelles Protein

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, ein umweltfreundliches Verfahren zu entwickeln, das eine Voranreicherung durch Ultrafiltration (UF) kombiniert mit einer selektiven enzymatischen Molkenprotein-Hydrolyse bei möglichst geringen Verlusten an Molkenprotein. Weiterhin sollten die verfahrenstechnischen Grundlagen erarbeitet werden für eine verlustarme Konzentrierung unter Beibehaltung der Nativität und unter Eliminierung von Restaktivitäten des Enzyms.

#### Forschungsergebnis:

Labmolke oder rekonstituiertes Molkenproteinkonzentrat (WPC) wird so ultrafiltriert, dass ein möglichst großer Teil vom α-La durch die Membranen permeiert, während die restlichen individuellen Molkenproteine im UF-Retentat verbleiben. Eine maximale Transmission wurde erreicht bei einem Transmembrandruck von 2,0 bar, einer Feedtemperatur von 45 °C und bei pH 6,75. Die Transmission der individuellen Molkenproteine nahm immer linear mit der Volumenreduktion zu. Rekonstituiertes WPC-35 (Trockenmasse 10 %) wurde neben Labmolke ebenfalls als Ausgangssubstrat mit Erfolg getestet. Bis zu 25 % des in der Molke vorhandenen  $\alpha$ -La passieren die UF-Membranen und machten dann im UF-Permeat etwa 50 % des Molkenproteins aus. Die restlichen 50 % verteilen sich auf β-Lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) und 2 – 3 % auf Serumalbumin. Das anfallende UF-Retentat hat im Vergleich zum herkömmlichen WPC einen deutlich erhöhten Gehalt an Immunglobulinen und einen erniedrigten α-La-Gehalt. Dieses modifizierte Molkenprotein verfügt über bessere funktionelle Eigenschaften als herkömmliches WPC. Das UF-Retentat bildet sehr stabile Schäume und Emulsionen und hat ausgezeichnete Gelbildungseigenschaften. Die Ergebnisse der Laborfiltrakonnten im kleintechnischen tionsversuche Maßstab mit industrieüblichen Spiralwickel-Membranen (150 kDa) bestätigt werden.



Für die Aufreinigung von α-La wurde ein selektiver enzymatischer Schritt erfolgreich getestet. Trypsin baut bei einem Enzymeinsatz von 5 FIP-U/g Protein nach einer Hydrolysedauer von ca. 2 h und bei pH 7,8 und 43 °C β-Lg ebenso restlos ab wie das in Labmolke vorhandene Caseinmakropeptid. α-La und Serumalbumin widerstehen einer Trypsinhydrolyse. Wenn β-Lg hydrolysiert ist, beginnt Trypsin auch α-La zu verdauen, wodurch die Ausbeute verringert wird. Um dem entgegenzuwirken wurde  $\alpha$ -La durch Zusatz vom 5 mM Ca++ erfolgreich widerstandsfähiger gemacht. Die Inaktivierung des Trypsins erfolgte durch Kurzzeiterhitzung nach einer kontinuierlich gestalteten Diafiltration mit Membranen der Trenngrenze von < 10 kDa und bei 55°C. Die Ausbeute an nativem  $\alpha$ -La betrug unabhängig von den getesteten UF-Membranen im diafiltrierten, getrockneten Proteinisolat > 10 %. Das isolierte Protein war vollständig nativ und hatte eine Reinheit von > 90 %.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Das Projekt ist von erheblicher wirtschaftlicher Bedeutung, insbesondere für Käsereien, die in der Regel den kmU zuzurechnen sind, sowie für Molkeverwerter. Der Preis für Molkenpulver und Molkenproteinkonzentrat ist in den vergangenen Jahren dramatisch eingebrochen, ohne dass mit einer schnellen Erholung zu rechnen ist. Diese Ausgangssituation zwingt vor allem kmU, die Wertschöpfung nachhaltig zu verbessern.

Durch die Gewinnung des ernährungsphysiologisch und pharmazeutisch wertvollen  $\alpha$ -La neben der Herstellung von Molkenproteinkonzentrat, lassen sich für Unternehmen Extragewinne realisieren. Kleine Betriebe, die nicht über genügend Molke verfügen, haben die Möglichkeit, handelsübliches WPC-35 zuzukaufen und entsprechend weiterzuverarbeiten. Bei einer erzielten Ausbeute von 12,6 % vom α-La, das in der Molke oder im WPC enthalten ist, ergibt sich bei einer täglichen Verarbeitung von z.B. 50 t Labmolke 12,6 kg α-La mit einem Proteingehalt von 60 %. Kaufen diese Betriebe noch täglich 1 t WPC-35 hinzu (enthält ca. 60 kg  $\alpha$ -La/t), kämen nochmals 12,0 kg in der gleichen Qualität dazu. Für ein kmU würde dies eine Produktmenge von 24,6 kg/d α-La bedeuten. Bei spezialisierten Molkeverwertern erhöht sich das Ergebnis entsprechend der täglich verfügbaren Molkemenge. Einen Zusatzbonus könnte bei Anwendung des Verfahrens durch die höherwertige Funktionalität des anfallenden Molkenproteinkonzentrates erzielt werden. Darüber hinaus lässt sich das ausgearbeitete Verfahren mit anderen Verfahren zur Isolierung individueller Molkenproteinfraktionen koppeln. So ist es z.B. möglich, aus dem anfallenden Molkenproteinkonzentrat, das etwas angereichert an  $\beta$ -Lg ist, dieses Protein ebenfalls in nativer Form zu gewinnen.

Auf der Anwenderseite dürfte α-La eine wichtige Rolle bei der Gestaltung funktioneller Lebensmittel einnehmen. Insbesondere werden für Hersteller von Kindernahrungsmitteln die Voraussetzungen für Produktkonzepte im innovativer Formelnahrungen mit verbesserten nutritiven Eigenschaften geschaffen. Auch im diätetischen Bereich sind aufgrund der extrem hohen biologischen Wertigkeit und der ausgezeichneten Löslichkeit im Bereich von pH 4,5 - 7 Produktinnovationen zu erwarten, die als Nischenprodukte gerade auch von kleineren Firmen auf den Markt gebracht werden können. Im lukrativen pharmazeutischen Bereich kann  $\alpha$ -La als natürliches Mittel zur Heilung von Magengeschwüren eingesetzt werden bzw. als Mittel zum Stressabbau dienen.

#### Publikationen (Auswahl):

- 1. FEI-Schlussbericht 2007.
- 2. Konrad, G. und Kleinschmidt, T.: A new method for isolation of native  $\alpha$ -lactalbumin from sweet whey. Intern. Dairy J. 18, 47-54 (2008).
- Konrad, G., Kleinschmidt, T., Faber, W., Packendorf, S. und Zücker, G.: Änderungen der Funktionalität von Molkenproteinkonzentraten durch Modifizierung der Proteinzusammensetzung. Dt. Milchwirt. 58 (16), 573-574 (2007).
- Konrad, G. und Kleinschmidt, T.: Entwicklung eines Verfahrens zur Isolierung von α-Laktalbumin aus Labmolke. 1. Selektive Voranreicherung durch Ultrafiltration. Dt. Milchwirt. 58 (11), 390-392 (2007).
- Konrad, G., Kleinschmidt, T., Packendorf, S. und Zücker, G.: Modifying the surface properties of whey protein using ultrafiltration. Milchwiss. 61 (4), 427-430 (2006).



## Weiteres Informationsmaterial:

Hochschule Anhalt (FH) FB Angewandte Biowissenschaften und Prozesstechnik

FG Lebensmittelverfahrenstechnik/Milchtechnologie Bernburger Str. 55, 06366 Köthen

Tel.: 03496/67-3560, Fax: 03496/67-2574 E-Mail: gerd.konrad@bwp.hs-anhalt.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150

E-Mail: fei@fei-bonn.de